



mRNA Aşılarının Üretim ve Dağıtımı: SARS-CoV-2 Deneyimi

Production and Distribution of mRNA Vaccines: SARS-CoV-2 Experience

Esra GÜZEL TANOĞLU [ID]

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye [Department of Molecular Biology and Genetics, Institution of Hamidiye Medical Sciences, University of Health Sciences, Istanbul, Turkey].

Makale geçmişi [Article Info]: Geliş Tarihi (Received): 28.12.2020. Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 17.01.2021.

İletişim [Correspondence]: Esra Güzel Tanoğlu; Dr.Öğr.Üy., Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye. E-posta: esra.guzel@sbu.edu.tr [Esra Güzel Tanoğlu; Asst.Prof., Department of Molecular Biology and Genetics, Institution of Hamidiye Medical Sciences, University of Health Sciences, Istanbul, Turkey. E-mail: esra.guzel@sbu.edu.tr]

Özet

SARS-CoV-2 (*Severe acute respiratory syndrome coronavirus*) pandemisi dünya genelinde daha önce benzeri hiç görülmemiş bir aşı talebi oluşturdu. Bu talebi karşılamak için, çok sayıda ticari firma ve kurumsal işletme yeni nesil platform teknolojilerini (mesajcı ribonükleik asit-mRNA ve vektör temelli aşılar) veya geleneksel üretim yaklaşımlarını (subünit ve inaktive aşılar) temel alarak aşı geliştirme çalışmalarına odaklandı. Bu stratejiler arasında mRNA platformunu kullanan bazı aşılar faz III çalışmalarını tamamlayarak birçok ülkede acil kullanım izni aldı ve 2021 yılının ilk günlerinde aşılama kişi sayısı milyonları aştı. mRNA aşılarının ölçeklenebilir kapasitede, düşük maliyetli ve hızlı üretim avantajlarına rağmen bu yeni teknoloji ile üretim yapan firmalar gelişmiş ülkelerin pandemiye müdahale için talep ettiği birkaç milyar dozu bulan aşı talebine cevap vermekte zorlanmaktadır. Aşı üretim hızını etkileyen en önemli sınırlayıcı faktörlerden biri GMP (*Good Manufacturing Practice*) koşullarında üretim yapabilen mRNA aşı üretim hatları ile ilgili alt yapının az sayıda ülkede bulunmasıdır. Bir aşı dozunda bulunan RNA miktarı, koruyucu bağışıklama için gereken doz sayısı, bir şişe içerisinde kaç dozluk aşı olduğu, aşı tasarımında modifiye nükleozit kullanıma durumu ve hammadde tedarikindeki sorunlar aşı üretim hızını belirleyen diğer faktörlerdir. Bu süreçte yapılan analizler replike olabildiği mRNA aşı tasarımlarının bağışıklama için çok düşük doz (0.1-10 µg) aşı dozu gerektirmesini bu büyük ölçekli talebe verilecek üretim yanıtı etkileyen en önemli parametre olarak değerlendirmektedir. Normal koşullarda aşı üretiminde etkinlik ve güvenlik en önemli ve kritik ölçütler olarak değerlendirilirken, SARS-CoV-2 pandemisinde mRNA aşıları için uzun dönem riskler henüz açıkça ortaya konmamış olmasına rağmen "ölçeklenebilir üretim ve aşı dağıtım altyapısı (soğuk zincir) ile ilgili düzenlemeler" üzerinde daha çok durulmaktadır. Bir diğer önemli adım ise aşılama dağıtımı ve sağlık hizmetleri alt yapısının desteği ile risk gruplarının hızla aşılama sürecinde organizasyon zorlukları yaşadığı gibi soğuk saklama koşullarının yaygın olmadığı bazı ülkelerde ise aşı dağıtımının planlanması gecikmektedir. SARS-CoV-2 pandemisi sürecinde kazanılan tecrübeler ile gelecekteki pandemilere verilecek yanıtın çok daha hızlı, etkili ve kapsamlı olacağı beklenmektedir. Bu makalede mRNA aşılarının üretim ve dağıtımı ile ilgili süreçlerin genel çerçevesi ile özetlenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: mRNA, saRNA, Aşı üretimi, Pandemi, Dağıtım, SARS-CoV-2, COVID-19.

Abstract

The SARS-CoV-2 (*Severe acute respiratory syndrome coronavirus*) pandemic has created an unprecedented demand for vaccines worldwide. To respond to this demand, many commercial companies and

institutional structures focused on vaccine development studies based on next-generation platform technologies (mRNA and vector-based vaccines) or traditional production approaches (subunit and inactivated vaccines). Among these strategies, some vaccines using the mRNA platform completed phase III studies and received emergency validation in many countries, and the number of vaccines exceeded millions in the first days of 2021. Despite the scalable capacity, low cost and fast production advantages of mRNA vaccines, companies that produce with this new technology have difficulty in responding to the vaccine demand, which reaches several billion doses demanded by developed countries for pandemic response. One of the most important limiting factors affecting the speed of vaccine production is that the infrastructure for mRNA vaccine production lines that can produce under GMP (Good Manufacturing Practice) is available in a few countries. The amount of RNA in a vaccine dose, the number of doses required for protective immunization, the number of doses of vaccine in a bottle, the use of modified nucleoside in vaccine design and the problems in raw material supply are other factors that determine the vaccine production rate. Analyzes carried out in this process consider the fact that replicable mRNA vaccine designs require very low dose (0.1-10 µg) vaccine dose for immunization as the most important parameter affecting the production response to this large-scale demand. While efficiency and safety are considered as the most important and critical criteria in vaccine production under normal conditions, although the long-term risks for mRNA vaccines in the SARS-CoV-2 pandemic have not yet been clearly revealed, more emphasis is placed on "regulations regarding scalable production and vaccine distribution infrastructure (cold chain)". Another important step is the distribution of vaccines and the rapid vaccination of risk groups with the support of the healthcare infrastructure. In some countries, organizational difficulties are experienced during the vaccination process and in some countries where cold storage conditions are not common, planning of vaccine distribution is delayed. With the experience gained during the SARS-CoV-2 pandemic process, it is expected that the response to future pandemics will be much faster, more effective, and comprehensive. In this article, it is aimed to summarize the processes related to the production and distribution of mRNA vaccines in a general framework.

Keywords: mRNA, saRNA, Vaccine production, Pandemic, Distribution, SARS-CoV-2, COVID-19.

Giriş

Aşılarda enfeksiyöz hastalıkların ve salgınların yayılımını önlemede en etkili ve düşük maliyetli koruyucu müdahalelerdir [1]. Hızlı ve yüksek kapasiteli üretim imkanı ve farklı koşullar için özel olarak modifiye edilebilme esnekliği ile haberci ribonükleik asit (*messenger* RNA, mRNA) aşılı geleneksel aşı platformlarına umut verici bir alternatif olarak görülmektedir [2]. Geçtiğimiz 20 yılda yürütülen çalışmalar mRNA temelli aşılarda çeşitli bulaşıcı hastalıklar ve farklı kanser türleri için genel olarak güvenli olduğunu ve iyi tolere edildiğini göstermiştir [3,4]. mRNA temelli sistemler için yapılan patent başvurularının incelendiği bir analizde 2010-2019 yılları arasında hem bulaşıcı hastalıklar hem de kanser endikasyonları için son 5 yılda patent başvuru sayılarında önemli bir büyüme olduğu bildirilmiştir [5]. İlginç olarak bulaşıcı hastalık endikasyonları için yapılan başvuruların sayısı, son 3 yılda kanser aşılı için yapılan başvuruları geçmiş ve ilgili makalede bu durumun MERS-CoV (*Middle East respiratory syndrome coronavirus*), Ebola virus ve Zika virus salgınlarının ardından "hızlı tasarım,

düşük maliyetli ve ölçeklenebilir üretim gibi avantajları ile mRNA aşılarda yeni ortaya çıkan virüslere bağlı salgınlara müdahale etme potansiyeli taşıması" nedeni ile artan ilginin bir yansıması olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. SARS-CoV-2 (*Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) pandemisinde bu ilginin en üst düzeye ulaştığı ve onlarca farklı mRNA aşılı modeli üzerinde çalışıldığı dikkate alındığında bu dengenin bulaşıcı hastalıklar lehine daha da büyüyeceği beklenebilir [6]. mRNA temelli sistemler için yapılan patent başvurularının neredeyse yarısı (2019 yılına kadarki dönemde) Moderna, CureVac, BioNTech ve GlaxoSmithKline olmak üzere dört şirket tarafından yapılmıştır [5]. İsmi geçen ticari kuruluşların SARS-CoV-2 pandemisi sürecinde aşılı çalışmalarını yüzlerce aşılı adayları arasında en önde tamamlamaları ve onay alan ilk aşılarda olmaları ayrıca dikkat çekicidir [7,8]. SARS-CoV-2 enfeksiyonunu ve neden olduğu COVID-19 (*Coronavirus disease 2019*) hastalığını önlemek için geliştirilen mRNA temelli aşılarda dördü 2020 yılı sonu itibarıyla klinik deneme aşamalarına geçmiştir; mRNA-1273 (Moderna),

BNT162b2 (Pfizer-BioNTech SE), CVnCoV (CureVac) ve LNPNCoVsRNA (Imperial College London) [5,6]. Bu aşılardan mRNA-1273 ve BNT162b2 aşılı 2020 yılının son ayı içerisinde birçok ülkede acil kullanım onayı almıştır [7-10]. SARS-CoV-2 pandemisinin daha kısa bir süre içerisinde durdurulabilmesinde dünya nüfusunun önemli bir bölümünün COVID-19'a karşı aşılınması gerekmekte ve dünya genelinde kapsamlı bir koruyucu bağışıklık eldesi için yüksek kapasitede aşı üretimine ulaşılması ve dağıtım altyapısının kurulması önem arz etmektedir [11]. Bu makalede SARS-CoV-2 pandemisi ile mücadeledeki rolü ile dikkat çeken mRNA aşılarının üretim ve dağıtım süreci ele alınmıştır.

mRNA Aşılarının Üretim Basamakları

Yüksek kaliteli mRNA'nın hızlı, basit, büyük ölçekli ve ucuz üretimini mümkün kılan yöntemlerin geliştirilmesi, mRNA aşılarının gelecekteki uygulamaları için kritik bir gerekliliktir [12]. mRNA'nın GMP (Good Manufacturing Practice) koşullarında üretimi; deoksiribonükleik asit (DNA) şablonu üretimi ve ardından enzimatik in-vitro transkripsiyon (IVT) ile başlar ve araştırma ölçeğinde sentez için kullanılan aynı çok adımlı protokolü izler (Şekil 1), son olarak ürünün güvenliğini ve etkinliğini sağlamak için ek kontroller içerir [13]. Farklı aşı tasarımlarında bu basamaklar kısaltılabilir. Aşı üretim protokolü spesifik mRNA yapısına ve kimyasına bağlı olarak veya modifiye edilmiş nükleozitleri ve farklı kapak oluşturma stratejilerini içerecek şekilde modifiye edilebilmektedir.

Üretim sürecini başlatmak için, *Escherichia coli* bakterisinde üretilen "şablon plazmit DNA" 3' ucunda bir poli-A kuyruğu olan transkriptlerin sentezine izin vermek için bir restriksiyon enzimi kullanılarak doğrusallaştırılır (lineerize edilir). Daha sonra bakteriyofajlardan (T7, SP6 veya T3 gibi) elde edilen bir DNA bağımlı bir RNA polimeraz enzimi ile nükleotit trifosfatlardan mRNA sentezlenir [2]. Şablon DNA daha sonra DNaz ile inkübasyon yoluyla yıkılır-parçalanır. Sonraki basamakta, verimli in-vivo translasyon etkinliği sağlamak için mRNA molekülleri enzimatik veya kimyasal olarak kapatılır (*capped*). Son olarak optimize edilmiş koşullar altında gram ölçekli reaksiyonlarda mRNA sentezi gerçekleştirilir [2].

mRNA sentezlendikten sonra, enzimler, serbest nükleotidler, kalıntı DNA ve kesilmiş RNA fragmanları dahil olmak üzere reaksiyon bileşenlerini uzaklaştırmak için birkaç saflaştırma adımı uygulanır. Laboratuvar ölçekli preparasyon için rutin olarak LiCl ile çöktürme kullanılırken, klinik ölçekte saflaştırma için büyük ölçekte kullanılması daha kolay olan parti veya kolon formatlarında türetilmiş mikro boncuklar kullanılır [2]. Bazı mRNA platformları için, interferona bağlı translasyon inhibisyonunun güçlü bir indükleyicisi olan dsRNA molekülleri ve diğer kontaminantların uzaklaştırılması nihai ürünün gücü için kritiktir. Bu işlem laboratuvar ölçeğinde ters fazlı FPLC (Fast Protein Liquid Chromatography) kullanılarak gerçekleştirilebilir. Ayrıca ölçeklenebilir sıvı fazlı (*aqueous*) saflaştırma yaklaşımları da denenmektedir. mRNA molekülleri saflaştırıldıktan sonra, son bir saklama tamponu ile içerisine alınır ve sonrasında klinik kullanım için şişelere doldurulmak üzere steril filtrelerden geçirilir. RNA hem enzimatik hem de kimyasal yollarla bozunmaya duyarlıdır, bu nedenle kontaminan RNazlar veya "antioksidanlar ve şelatörler" gibi tampon bileşenlerini içermediğinden emin olmak için formülasyon tamponları ayrıca test edilir. Böylece mRNA kararsızlığına yol açan reaktif oksijen türlerinin ve iki değerlikli metal iyonlarının etkileri en aza indirilir [2].

- 1 mRNA temelli bir sistemin tasarım süreci
Yıllar; bilgi birikimi ve yeni teknolojilerin geliştirilmesi
- 2 Plazmid linearizasyonu
1 – 16 saat (kullanılan enzimin aktivitesine göre)
- 3 Transkripsiyon
1 – 3 saat (transkriptin uzunluğuna göre)
- 4 DNAaz ile muamele
15 dakika
- 5 Diafiltrasyon
4 saat – 3 gün (işlenen ürün miktarına-hacmine göre)
- 6 Pürifikasyon
4 saat – 10 gün (işlenen ürün miktarına-hacmine göre)
- 7 Diafiltrasyon
4 saat – 3 gün (işlenen ürün miktarına-hacmine göre)
- 8 Ürünün kalite kontrolü
1 gün – 4 hafta (kullanılan teste göre)

Şekil 1. mRNA temelli aşı sistemlerinin üretim basamakları ve gereken süreler [14,15].

mRNA Aşılarının Yüksek Kapasiteli Üretimi

İki ana RNA aşısı türü vardır, replike olmayan mRNA ve replike olabilen RNA (saRNA, *self-amplifying* RNA) aşıları [4]. saRNA aşıları hücreye girdikten sonra belirli bir süre için nu mRNA'ların kopyaları üretilir ve böylece standart mRNA aşılarına kıyasla bu sistemde aşı dozu başına çok daha düşük (0.1-1 µg) RNA miktarları yeterlidir, bu özelliği ile replike olmayan mRNA'ya (25-250 µg) kıyasla, litrelik biyoreaksiyon dozları açısından potansiyel olarak önemli maliyet faydaları ve daha yüksek verimlilik sunarlar [1]. Bu nedenle, üretim süreci performansı, replike olmayan mRNA ve saRNA aşıları için ayrı ayrı değerlendirilebilir. Diğer taraftan, mRNA aşıları, saRNA aşılarına kıyasla klinik olarak daha geniş çapta test edilmiştir [1,3,4].

RNA aşı maddesi (*drug substance*) üretim hızı, miktarı ve maliyeti doz başına RNA miktarından büyük ölçüde etkilenirken, bir derece de üretim sürecindeki ölçek büyüklüğünden etkilenir [11]. Örneğin, düşük dozlarda üretilebilen saRNA aşıları için, küresel talep, 10 L'nin altındaki biyoreaktör çalışma hacmi ölçeğinde bir üretim süreci kullanılarak karşılanabilirken, aşı başına yüksek dozda RNA içeren standart mRNA aşılarında bu miktar çok daha yüksek olacaktır [11]. Ayrıca, RNA aşı maddesi üretimi, çok doz içeren şişelerde tek dozluk şişelere göre daha hızlı olabilir; dolayısıyla her şişede tek dozluk üretim pandemi sürecindeki büyük talebi karşılamada yetersizlik oluşturabilir [11]. Aşının yüksek kapasiteli üretim süreci ve doz başına maliyeti ise içerdiği mRNA miktarının haricinde; transkriptin uzunluğu, aşı tasarımında kullanılan kapak sistemi, IVT ürünlerinin saflaştırılmasında kullanılan yöntem ve diğer ek enzim ve ek modifikasyon gereksinimleri ve aşının in-vivo iletiminde kullanılacak taşıyıcı sistemin özelliklerine göre önemli ölçüde değişir (Şekil 1) [11,14]. Tesis inşası, ekipman donatımı ve onay süreci ile beraber yaklaşık 20 milyon ABD Doları'na (USD) karşılık gelen küçük bir tesiste 5 L biyoreaktör çalışma hacmine karşılık gelen bir proses ölçeğinde "saRNA için 1 USD/dozun altındaki bir ilaç ürünü maliyetiyle" yılda 1 milyardan fazla aşı dozuna denk gelen aşı maddesi üretebilir [1]. Standart mRNA aşıları için aşı içeriğindeki mRNA miktarı ile doğru orantılı olarak

doz başına maliyet daha yüksek olacaktır; örneğin 30 µg/doz RNA içeren BNT162b2 aşısı için birim pazarlama ücreti 19.5 USD olarak belirlenmişken, 100 µg/doz RNA içeren mRNA-1273 aşısı için doz başına ücret yaklaşık olarak 25-37 USD'dir [16]. RNA sentezi ve taşıyıcı lipit nanopartikül (LNP) üretiminde kullanılan hammaddelerin yüksek maliyeti nedeniyle böyle bir tesisin yıllık işletme maliyetlerinin 100 milyon USD'nin üzerinde olacağı tahmin edilmektedir [1]. Bu 100 milyon USD'lik maliyet modellemesi, materyal ve sarf malzemesi maliyetlerini, işçilik maliyetlerini, tesise bağlı maliyetleri, kalite kontrol ve kalite güvence maliyetlerini ve atık bertaraf maliyetlerini içerirken, aşı geliştirme sürecinin teknik bilgi ve ürün geliştirme süreci (*know-how*) ise ayrı bir konudur ve bu maliyet analizinin haricindedir [1,11]. Sonuç olarak, ürün geliştirme süreci, pazarlama ve dağıtım maliyetleri göz ardı edildiğinde toplam işletme maliyetlerinin %50'sinden fazlasını 5'-cap analogu hammaddesinin oluşturacağı ve bu kalemin mRNA aşıları için ana maliyet bileşeni olduğu değerlendirilmiştir [1,11]. 5' ucundaki kapak yapısı, RNA'nın "kapaksız RNA'yı yabancı (örneğin viral) materyal" olarak gören doğal bağışıklık mekanizmaları tarafından tanınarak bozulmasını önlemek ve dolayısıyla RNA polimerinden verimli protein antijen ekspresyonunu sağlamak için çok önemlidir [2,4]. En yüksek verimli 5-başlık analogları ise mRNA ve saRNA aşıları için sırasıyla CleanCap AG ve CleanCapAU olarak tanımlanmıştır (TriLink Biotechnologies, ABD) [1].

Yeni Etkenlere Yönelik mRNA Aşısı Üretimi

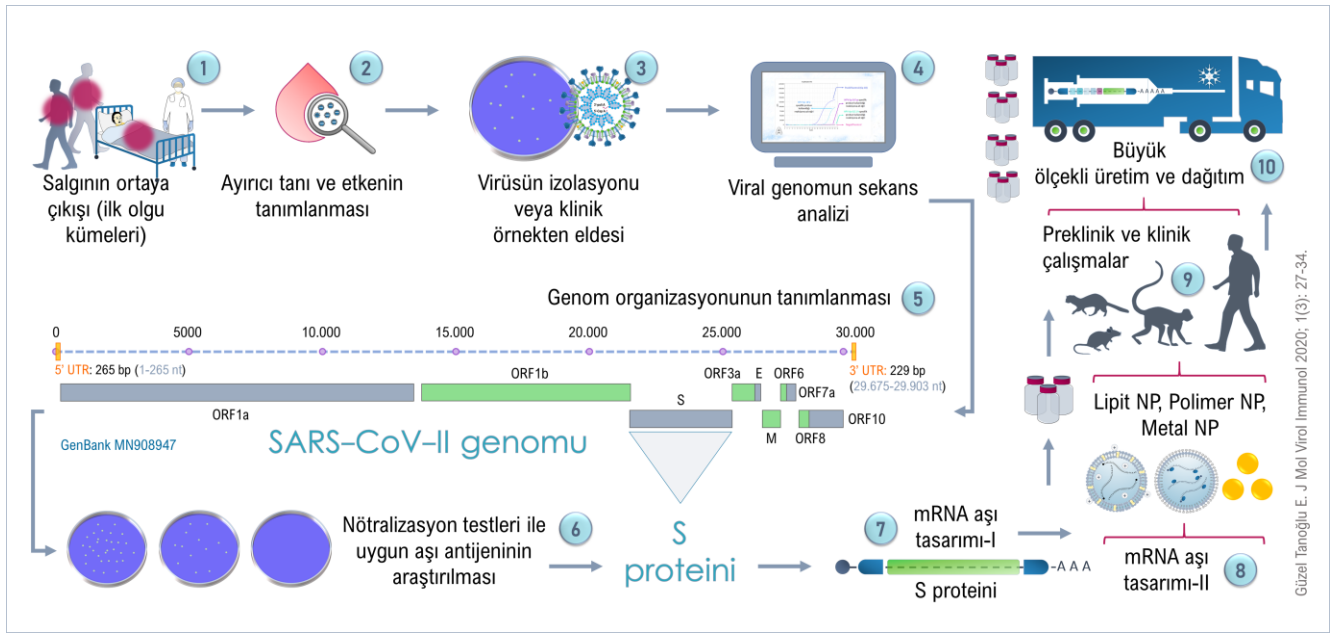
Yeni bir etkenin veya bilinen bir etkenin farklı bir alt-tipinin neden olduğu bir salgın ortaya ilk çıktığında virüsün tanımlanması ve genomik dizisinin belirlenmesi sonrasında aşı üretimi için uygun olan antijenik yapıları tanımlanır ve mRNA sisteminin tasarımına geçilir [17]. RNA aşısı içeriğinin (*drug substance*) üretimi bir platform teknolojisidir, yani hemen her RNA sekansı; mRNA sentezi, saflaştırması ve formülasyonu aynı işlemler ile üretilebilir [11]. Yeni bir aşının üretimine geçerken bu süreçte değiştirilmesi gereken tek bileşen, RNA'nın T7 RNA polimeraz enzimi kullanılarak sentezlendiği DNA şablonudur [11]. Kuş türleri arasında enfeksiyonlara neden

olduğu bilinen influenza H7 kökeninin memelilere nadiren bulaştığı bilinirken, ilk kez 2013 yılında H7N9 virusunun insanları enfekte ettiği bildirildi [18]. H7N9 influenza virus salgınında virüsün hemaglutinin ve nöraminidaz sekansları web tabanlı gen kütüphanelerinde yayımlandıktan 8 gün gibi kısa bir süre sonra bir mRNA aşı adayı üretilmiştir [19]. Benzer şekilde SARS-CoV-2 virusunun genetik sekansı belirlendikten sonra günler içerisinde DNA şablonu oluşturulmuş ve 42 gün içerisinde insanlarda test edilebilecek aşı formülasyonu elde edilmiştir [1,11].

Aşı üretiminde ilk basamaklardan olan DNA şablonu, iyi bilinen bir yaklaşım olan *E. coli* aracılı fermantasyon temelli süreçler kullanılarak veya Doggybone™ (Touchlight Genetics, UK) gibi ticari enzimatik süreçler kullanılarak büyük ölçekte plazmit DNA olarak üretilebilir [20,21]. Dairesel

plazmit DNA şablonunu bir restriksiyon enzimi kullanılarak lineerize edilir [2]. SaRNA aşuları, standart mRNA aşularına kıyasla daha büyük bir DNA şablonu gerektirir, ancak bu tür aşular için gereken büyük plazmitler hem *E. coli* fermantasyonu hem de Doggybone™ teknolojisi kullanılarak üretilebilmektedir [11]. DNA şablonu oluşturulduktan sonra aşının klinik çalışma ölçeğinde üretimi gerçekleştirilir ve faz III çalışmaları ile etkin ve güvenli olduğu kanıtlanan aşular salgınlara müdahale için büyük ölçekte üretilir (Şekil 2).

Aşı geliştirme çalışmaları sırasında klinik çalışma aşamalarında, en yüksek maliyetler ve en uzun süreler faz III klinik çalışmaları için gerekirken, en yüksek başarısızlık oranları aşuların etkinliğinin değerlendirildiği faz II klinik çalışmalarda ortaya çıkma eğilimindedir [1].



Şekil 2. Yeni ortaya çıkan bir viral enfeksiyona karşı mRNA aşı geliştirme süreci, SARS-CoV-2 örneği.

SARS-CoV-2 RNA Aşılarının Üretim Ölçekleri

Küresel bir salgında aşı talebini karşılamak için gereken kaynaklar, üretim ölçeği ve hız; doz başına RNA miktarına, modifiye nükleotitlerin kullanımına ve her bir kişiyi aşılama için gereken doz sayısına bağlı olarak büyük ölçüde değişir [11]. Küresel nüfusun 7.8 milyar olduğu (2020 sonu) ve kullanım onayı alan SARS-CoV-2 aşılarının çoğunun kişi başına iki doz aşılama gerektirdiği dikkate alındığında, eğer tüm yaş gruplarındaki tüm insanlar gönüllü olup aşılama

isterlerse SARS-CoV-2 aşuları için toplam küresel talebin 15.6 milyar doz olacağı hesaplanmıştır [11]. SARS-CoV-2 için mRNA aşuları yanında adenovirus vektör aşuları, inaktive virüs ve rekombinan protein aşuları gibi diğer aşuların da geliştirilmekte olduğu dikkate alındığında, LNP ile formülize edilmiş mRNA aşuları için pazar payının yılda 8 milyar doz olacağı varsayılmaktadır [6,11].

Yeni mRNA aşı platformu teknolojileri, gerekli onaylar alınıp GMP platformunda üretim süreci geliştirildikten sonra, geleneksel ekspresyon

sistemlerine kıyasla önemli ölçüde daha hızlı bir şekilde üretilebilir [1]. mRNA temelli sistemler, aşı antijeninin tanımlamasından sonraki haftalar-aylar içerisinde geleneksel teknolojilerden (inaktive aşilar ve rekombinan protein aşiları gibi) en az 10 kat daha hızlı bir şekilde aşı üretimini mümkün kılmaktadır [1]. Ek olarak, hastalık hedefine karşı agnostik olan RNA platformunun çoklu tekrar dozları gereken durumlarda (vektör temelli aşiların aksine) güvenle kullanılabilmesi, aşı varyantları ortaya çıktığında süreç yeniden doğrulamaya gerek kalmaksızın modifiye edilerek hızla üretilebilmesi önemlidir, çünkü aşının platform kısmı RNA dizisinden bağımsızdır ve bu nedenle etkinliği ve güvenliği standart hale getirilebilir [1].

Hücre kültürü temelli SARS-CoV-2 aşiları ile kıyaslandığında mRNA temelli aşiların genel olarak ölçeklenebilir üretime daha uygun olmaları bu aşiları pandemiye müdahale için cazip araçlara dönüştürmüştür [2]. Klinik öncesi çalışma aşamalarında olanlar da dahil olmak üzere SARS-CoV-2'ye yönelik geliştirilmekte olan mRNA temelli aşı sayısı 30'a ulaşmıştır [22]. Bir çalışmada klinik çalışma aşamalarına geçen dört mRNA aşısı (mRNA-1273 100 µg/doz, BNT162b2 30 µg/doz, CVnCoV 12 µg/doz, LNP-nCoVsaRNA 1 µg/doz) ve varsayılan bir temsili aşı modelinin (modifiye UTP kullanmayan bir saRNA platformu 0.1 µg/doz) SARS-CoV-2 pandemisine yanıtaki hızı ve üretim kapasitesi analiz edilmiştir [11]. Bahsedilen araştırmada tek bir üretim hattına sahip tek bir tesis kullanılarak 8 milyar doz LNP-mRNA aşısı üretmek için gereken zamanın bahsedilen beş farklı aşı türü arasında önemli ölçüde değiştiği sonucuna varılmıştır [11]. Bu çalışmada 8 milyar dozluk küresel yıllık talebi karşılamak için, 25-100 µg/doz gibi yüksek RNA dozlu aşilar için 30 L'lik biyoreaktör çalışma hacmi ölçeğinde çok sayıda tesise gereksinim olacağı hesaplanmıştır. Örneğin, yılda 8 milyar doz RNA aşısı üretmek için gereken toplam ölçek, 100 µg/doz mRNA aşısı için 610-915 L aralığında iken 0.1 µg/doz saRNA aşısı için 0.57-0.86 L aralığında hesaplanmıştır [11]. Bu durumda 100 µg/doz mRNA aşısı için tesis başına 30 L ölçekli bir işlem hacmi olmak üzere 21 ila 31 tesisin varlığına gereksinim olacağı belirtilmiştir. Doz başına 1 µg saRNA içeren aşı için ise 7 L biyoreaktör çalışma

hacmi ölçeğindeki tek bir üretim hattı ile yılda 8 milyardan fazla aşı dozunun üretebileceği, buna karşın doz başına 0.1 µg saRNA içeren bir aşı için bu yıllık talebin 1 L'lik biyoreaktör çalışma hacmi ölçeğinde bir proses kullanılarak karşılanabileceği değerlendirilmiştir [11]. Uygulanabilir ölçekler dikkate alınarak yapılan hesaplama göre 100 µg/doz ve 0.1 µg/doz içeren aşilar için üretilen aşı partisi (*batches*) sayısının ise sırasıyla 9030-13.544 parti aralığından 271-407 parti aralığına azalacağı öngörülmüştür [11]. Bahsedilen analizde [11], aşı üretimi için gereken süreler de ele alınmış ve 0.1 µg/doz saRNA aşısı için 8 milyar dozluk aşının 1 L'lik bir biyoreaktör çalışma hacmi olan tek bir tesiste 6.5 ve 9.8 ay içerisinde üretilenileceği, üretim süreçleri büyütülürse veya birden fazla üretim hattı veya tesis kullanılırsa bu sürenin daha da kısaltılabileceği belirtilmiştir. Dikkat çekici bir şekilde 30 L biyoreaktör çalışma hacmi ölçeğinde tek bir üretim hattı kullanılarak 100 µg/doz mRNA aşısı için 8 milyar doz aşı üretmek ise 19 ila 29 yıl sürebilecektir [11], ki bu ölçek bir pandemiye yanıt vermek için yetersiz olduğundan alternatif aşı üretim teknolojilerinin kullanılması gerekecektir. Bu değerlendirmelere genel olarak bakıldığında aşı üretim kapasitesini etkileyen en önemli parametrelerden birinin koruyucu immünite elde etmek için gereken aşı dozu miktarı olduğu görülürken, saRNA aşilarının bu konuda önemli bir avantaja sahip olacağı görülmektedir.

Yeni nesil RNA aşilarıyla tek doz aşılama mümkün hale gelse idi, küresel aşı talebi daha kolay karşılanabilecek ve aşılama programları daha az karmaşıklıkla daha hızlı yürütülebilecekti [11], ancak klinik çalışmaların da ortaya koyduğu üzere virüse karşı oluşan immün yanıtın karakteristiği gereği SARS-CoV-2 enfeksiyonu için koruyucu bağışıklık üretilebilmesi için en az iki doz aşılama yapılması gerekmektedir [23,24].

BNT162b2 ve mRNA-1273 Aşiları

Pfizer (New York, NY, Amerika Birleşik Devletleri-ABD) ve BioNTech SE (Mainz, Almanya), 2021 yılı sonuna kadar doz başına 30 µg mRNA içeren BNT162b2 aşısından toplam 1.3 milyar doz üreteceğini öngörmektedir [11]. Bu aşının hem ABD'de hem de Avrupa'da (Almanya ve Belçika'da) yerleşik birkaç farklı tesiste

üretimi planlanmaktadır [11]. Moderna (Cambridge, MA, ABD) ise mRNA-1273 aşısından 2021'in ilk çeyreğinde toplam 125 milyon doz üretim yapacağını duyurdu (bu aşı doz başına 100 µg mRNA içeriyor), 2021'in sonunda Moderna, ABD, İspanya ve İsviçre'deki tesislerde yılda 500 milyon ila 1 milyar doz aşı üretmeyi hedefliyor [11]. Son olarak, faz II çalışmaları devam eden aşılardan CVnCoV (CureVac) aşısının Almanya'da ve LNPNCoVsaRNA aşısının ise (Imperial College London) İngiltere'de üretilmesi planlanmaktadır [11].

Pandemik müdahale için gerekli olan aciliyet ve yüksek ölçekli üretim gereksinimi nedeniyle aşılarda dağıtım ilgili lojistik zorluklar da vardır. BioNTech ve Pfizer tarafından geliştirilen BNT162b2 aşısı için -70°C ve Moderna tarafından geliştirilen mRNA-1273 aşısı için -20°C'de dağıtım ve saklama gerekmektedir [11]. -70°C'de düşük ve özellikle ultra düşük sıcaklıkta saklama daha maliyetlidir ve dağıtım ve aşılamada merkezlerinde normalde bulunmayan özel derin dondurucular gerektirir. Bu tür ısıya duyarlı aşılarda dağıtım, gerekli soğuk veya ultra soğuk zincir altyapısının mevcut olmadığı düşük ve orta gelirli ülkelerde daha da güçleşmektedir. Bu aşılarda daha yüksek sıcaklıklarda yüksek ısıya duyarlılığı ve kısa raf ömrü nedeniyle, hastalara dağıtım ve uygulama sırasında aşı dozlarında kayıplar meydana gelebileceği de bilinmelidir. Bu nedenle, kayıpları telafi etmek için daha fazla aşı üretimi gerekli olacaktır. Isıya dayanıklı formülasyonların

geliştirilmesi ile dağıtım lojistiği basitleştirilirken, dağıtım maliyetleri de azaltılabilir. Türkiye'de Selçuk Üniversitesi bünyesinde geliştirilen SARS-CoV-2 mRNA aşısı için araştırmacılar oda ısısında stabilitesini koruyan bir aşı üzerinde çalışmalarını bildirmişlerdir [25].

Sonuç

Gelecekteki salgınlara karşı aşı üretme konusunda daha iyi bir konumda olmak için, farklı ülkeler ve bölgelerde; olası bir pandemiye müdahale imkanı sunacak üretim kapasiteleri uygun tesislerin kurulması önem arz etmektedir. Bu üretim tesisleri ve hatları farklı viral hastalıklara karşı aşı üretmek için (rutin aşılamada bulunan etkenler veya veterinerlikle ilgili aşılarda gibi) veya klinik araştırmalar için yüksek talep gören başka aşılarda veya aşı adaylarının geliştirilmesi ve üretilmesi için de kullanılabilir.

Bunun dışında pandemi ve salgınlara başarılı bir şekilde müdahale edilebilmesi için; şeffaf bilgi paylaşımı, hammadde ve aşı tedarik süreçlerinin insani prensiplere uygun bir şekilde yürütülmesi, aşı dağıtım için gerekli alt yapının gelişmekte olan ülkeleri de kapsayacak şekilde yaygınlaştırılması gibi alanlarda uluslararası iş birliği önem arz etmektedir. Maliyet-etkin aşı dağıtım ve saklama stratejileri, daha düşük aşı dozu ile daha yüksek koruma sağlayan yeni nesil aşılarda geliştirilmesi gibi üzerinde çalışılması gereken farklı başlıklar da bulunmaktadır.

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

Kaynaklar

1. Kis Z, Kontoravdi C, Dey AK, Shattock R, Shah N. Rapid development and deployment of high-volume vaccines for pandemic response. J Adv Manuf Process 2020; 2: e10060. [Crossref]
2. 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]
3. Ulmer JB, Geall AJ. Recent innovations in mRNA vaccines. Curr Opin Immunol 2016; 41: 18-22. [Crossref]
4. Verbeke R, Lentacker I, De Smedt SC, Dewitte H. Three decades of messenger RNA vaccine development. Nano Today 2019; 28: 100766. [Crossref]

5. Martin C, Lowery D. mRNA vaccines: intellectual property landscape. Nat Rev Drug Discov 2020; 19(9): 578. [Crossref]
6. 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 January 10, 2020].
7. 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].

8. 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].

9. 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].

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

11. 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]

12. Pardi N, Hogan MJ, Weissman D. Recent advances in mRNA vaccine technology. *Curr Opin Immunol* 2020; 65: 14-20. [Crossref]

13. Pardi N, Muramatsu H, Weissman D, Karikó K. In vitro transcription of long RNA containing modified nucleosides. *Methods Mol Biol* 2013; 969: 29-42. [Crossref]

14. McCaffrey A. Design and Manufacturing of Messenger RNA Therapeutics. Education Session from the American Society of Gene & Cell Therapy's 22nd Annual Meeting, April 29 - May 2, 2019. Washington Hilton, Washington DC, USA. Available at: https://www.youtube.com/watch?v=8j33dGRZ_S4&list=LL&index=3 [Accessed December 28, 2020].

15. Crommelin DJA, Anchordoquy TJ, Volkin DB, Jiskoot W, Mastrobattista E. Addressing the Cold Reality of mRNA Vaccine Stability. *J Pharm Sci* 2020: S0022-3549(20)30785-1. [Crossref]

16. Anadolu Ajansı, Ankara, Türkiye. Rusya'da üretilen Kovid-19 aşısı adayının ABD'nin geliştirdiklerinden ucuz olacağı iddia edildi. Available at: [https://www.aa.com.tr/tr/dunya/rusyada-uretilen-kovid-19-asi-adayinin-abdnin-gelistirdiklerinden-ucuz-](https://www.aa.com.tr/tr/dunya/rusyada-uretilen-kovid-19-asi-adayinin-abdnin-gelistirdiklerinden-ucuz-olacagi-iddia-edildi)

[olacagi-iddia-edildi/2052137](https://www.aa.com.tr/tr/dunya/rusyada-uretilen-kovid-19-asi-adayinin-abdnin-gelistirdiklerinden-ucuz-olacagi-iddia-edildi/2052137) [Accessed December 28, 2020]

17. Park KS, Sun X, Aikins ME, Moon JJ. Non-viral COVID-19 vaccine delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev* 2021; 169: 137-51. [Crossref]

18. Gao R, Cao B, Hu Y, Feng Z, Wang D, Hu W, et al. Human infection with a novel avian-origin influenza A (H7N9) virus. *N Engl J Med* 2013; 368(20): 1888-97. [Crossref]

19. 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]

20. Scott VL, Patel A, Villarreal DO, Hensley SE, Ragwan E, Yan J, et al. Novel synthetic plasmid and Doggybone DNA vaccines induce neutralizing antibodies and provide protection from lethal influenza challenge in mice. *Hum Vaccin Immunother* 2015; 11(8): 1972-82. [Crossref]

21. Liu MA. A Comparison of Plasmid DNA and mRNA as Vaccine Technologies. *Vaccines (Basel)* 2019; 7(2): 37. [Crossref]

22. DeFrancesco L. Whither COVID-19 vaccines? *Nat Biotechnol* 2020; 38(10): 1132-45. [Crossref]

23. 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]

24. 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]

25. 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]