

CRISPR GEN DÜZENLEME TEKNOLOJİSİ İLE SITMA TEDAVİSİNDE KULLANILACAK CANLI ZAYIFLATILMIŞ KAN EVRESİ AŞISI GELİŞTİRİLMESİ

ÖZET

Sıtma insanlık tarihinin ilk yıllarından beri özellikle gebe ve çocukları etkileyen ve binlerce insanın ölümüne yol açmış başlıca küresel sağlık problemlerinden biridir. Sıtma tedavisinde karşılaşılan en büyük zorluk sıtma ilaçlarına karşı gelişen ilaç direncidir. Sıtmanın yok edilebilmesi için aşılama en güvenilir ve önemli yöntemlerden biridir. Ancak sıtma tedavisinde kullanılacak mevcut bir aşının bulunmadığı ve geliştirilen alt birim aşı adayları etkinliğinin % 0-30 arasında olduğu rapor edilmiştir. Diğer yandan, deneysel aşılamalarda kullanılan canlı zayıflatılmış aşılardan steril bağışıklığı indüklediği gösterilmiştir. Ancak gen düzenleme teknolojilerinin yetersiz olması canlı zayıflatılmış aşılardan geliştirilmesini sınırlamaktadır.

İnsan sıtma türünde nucleosit transport gen ailesinin 4 üyesi (NT1, NT2, NT3 ve NT4) tanımlanmıştır ve her bir aile üyesinin konakçıdan pürin alımında rol oynadığı düşünülmektedir. Bu tez çalışmasında nucleosit transport 1 geni *P. yoelii* ve *P. berghei* suşlarından CRISPR-Cas9 gen düzenleme yöntemiyle silinmiştir. CRISPR-Cas9 teknolojisi, çeşitli canlı organizma genlerinin düzenlenmesinde kullanılmaktadır. CRISPR-Cas9 teknolojisi homolog rekombinasyon temelli gen hedefleme yöntemini geliştirmede ışık tutmaktadır. Bu çalışmada ayrıca üretilen nükleosit transport 1 geni silinmiş parazit suşları ile karışık doz canlı zayıflatılmış kan evresi sıtma aşısı modeli geliştirilmiştir. Eşit miktarda *Pbnt1(-)* ve *Pynt1(-)* parazitleri karıştırılarak taze ya da dondurulmuş formda oluşturulan aşılardan tek doz subkutan yolla farklı fare gruplarına injekte edilmiştir. Ardından aşının etkinliği yabancı tür *P. berghei* ANKA ve *P. yoelii* 17-XNL ile intravenöz olarak injekte edilerek incelenmiş ve steril koruma gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, genetik yöntemlerle zayıflatılmış iki farklı parazit türünün tek doz deri altı subpatent injeksiyonunun insanlarda da iki farklı türdeki sıtma enfeksiyonuna karşı koruyucu olabileceğini düşündürmektedir. NT1 geni silinmiş parazitler pürin içeren kültürlerde üretilebilir ve endemik bölgelere dondurulmuş dozlar olarak sıvı nitrojen içinde gönderilebilir.

Bu tezde ayrıca nükleosit transport 4 geninin plazmodium yaşam döngüsündeki rolü potansiyel sıtma aşısı hedefi olarak incelenmiştir. NT4 nakavt *P. berghei* parazitleri üretilmiş, bu parazitlerin kan evresindeki gelişiminde belirli bir farklılık görülmemiştir. Ancak, sporozoitlerin ookistlerden çıkışı ve tükrük bezini istilasında bir kısıtlanma gözlemlenmiştir. Ayrıca, tükrük bezi ve hemolenften toplanan *Pbnt4(-)* sporozoitlerinin enfeksiyona sebep olmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak gelecekteki NT4 geni sıtma transmisyon blokaj çalışmaları için umut vaadedicidir.

Anahtar Kelimeler: Sıtma, *Plasmodium berghei*, *Plasmodium yoelii*, CRISPR-Cas9, kan evresi aşısı, Nucleosit Transport 1, Nucleosit Transport 4