



# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

**Marco Antonio Stephano**

**E-mail: [stephano@usp.br](mailto:stephano@usp.br)**



# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

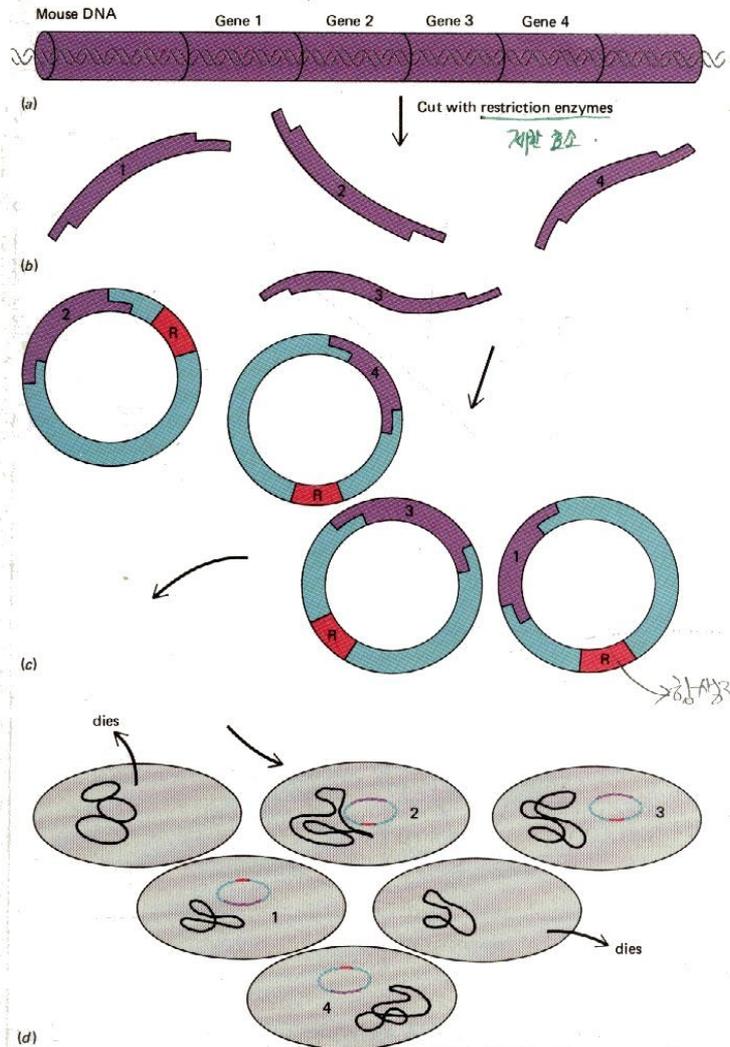
As vacinas derivadas de manipulação gênica  
São classificadas em:



- a) Recombinantes
- b) Deletadas
- c) atenuado
- d) Vetoriais
- e) molécula de DNA



# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA



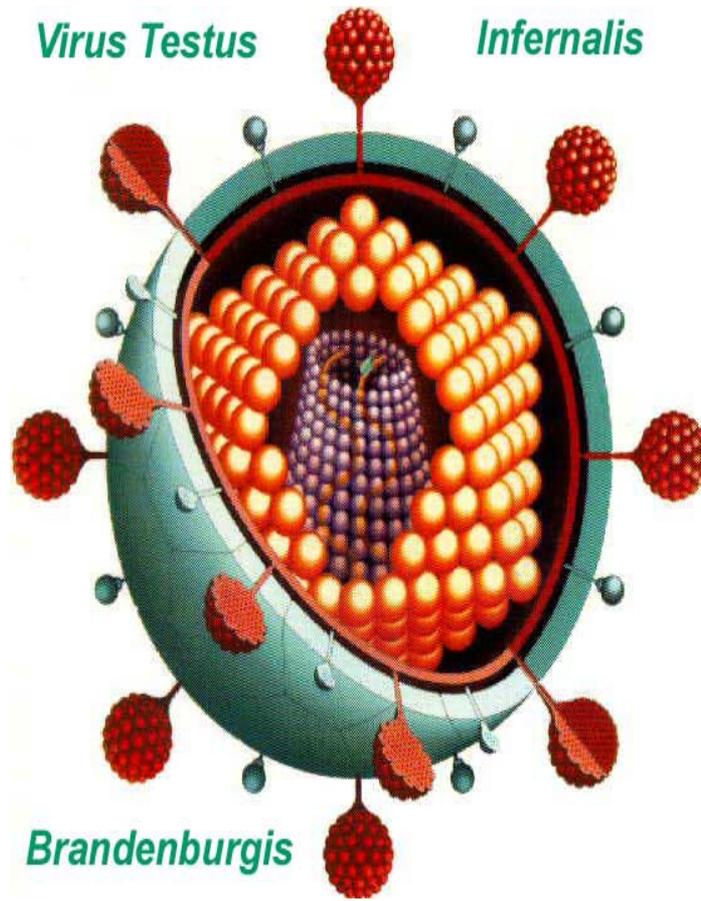
## Vacinas Recombinantes

São vacinas compostas de proteínas ou glicoproteínas puras obtidas pela inserção de parte do genes do microrganismo patogênico em genes de um microrganismo receptor não patogênico.

Os microrganismos receptores podem ser bactérias, leveduras e células diplóides de origem animal ou humana.



# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA



## Vacinas Deletadas

São vacinas que através da manipulação gênica uma proteína ou glicoproteína de membrana ou parede celular é removida por deleção do gen que a codifica.

A principal vantagem desta vacina é o monitoramento sanitário de regiões livres da doença ao qual se quer proteger o indivíduo ou animal.

A presença de anticorpos contra a proteína ou glicoproteína mostra que houve quebra de barreiras sanitárias e por isto o microrganismo patogênico foi introduzido no ambiente.

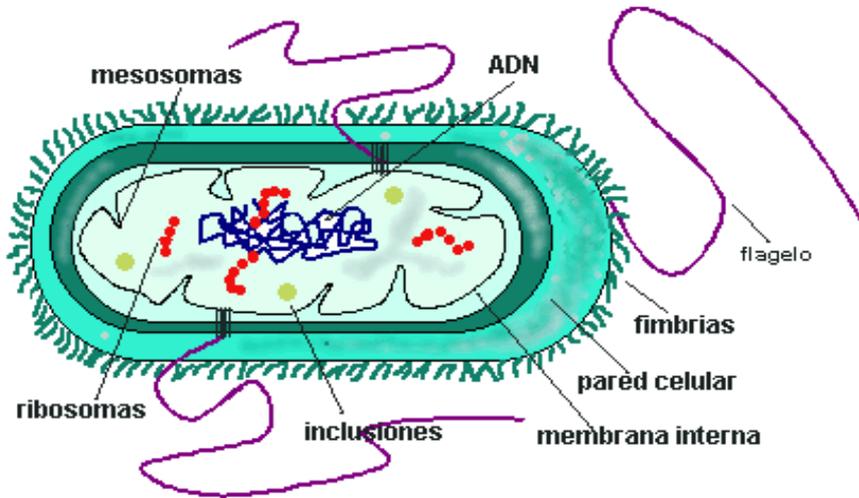


# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

## Vacinas Atenuadas Geneticamente

São vacinas que o microrganismos foram manipulados por técnica de engenharia genética e tiveram diminuídas ou eliminadas a sua patogenicidade.

Estas vacinas apresentam como vantagem a propriedade do microrganismo se multiplicar no hospedeiro permitindo uma melhor resposta imunológica sem o risco da disseminação da doença.





## VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

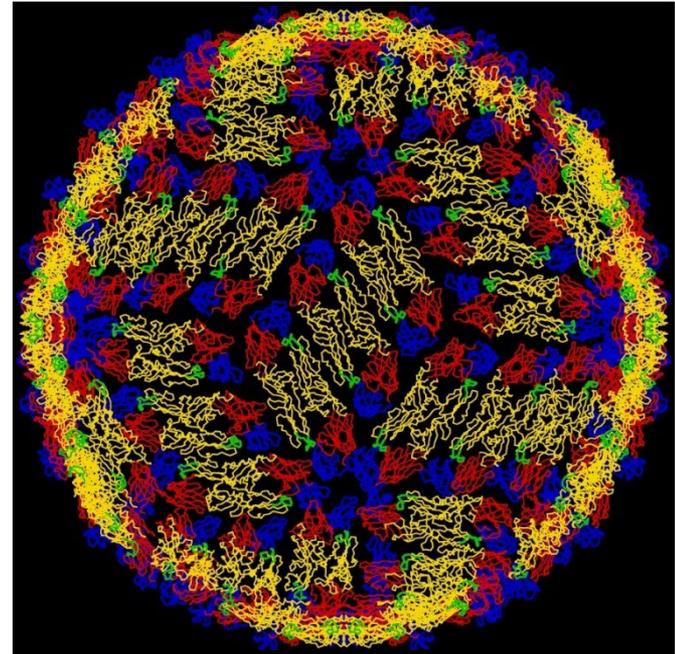
Complexo Sorológico	Numero de Soro-Grupos	Tipos de Vacinas Existentes
Vírus da Dengue	4	Nenhuma
Encefalite Japonesa (JE, WN-KUN, MVE, SLE)	4	JE- Viva e Inativada
Febre Amarela	1	Viva Atenuada
Tick-borne Encephalitis	1	Inativada



# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

E protein:

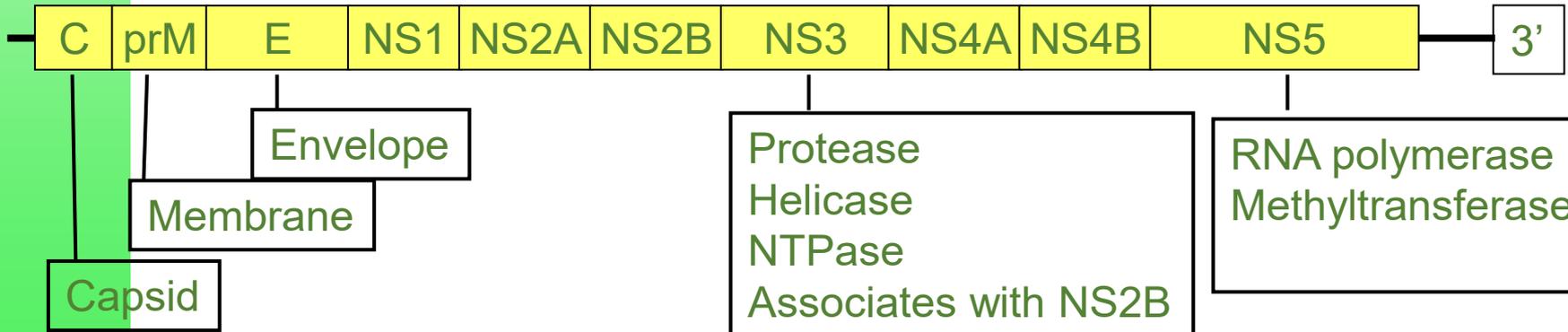
Domain I: red  
Domain II: yellow  
Domain III: blue  
Fusion pep: green



Source: Kuhn, et al. Cell. 2002 Mar 8;108(5):717-25.

Structural

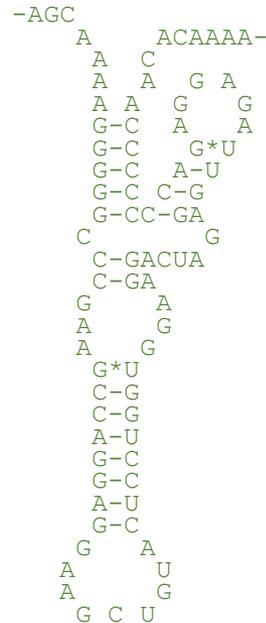
Non-structural





# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

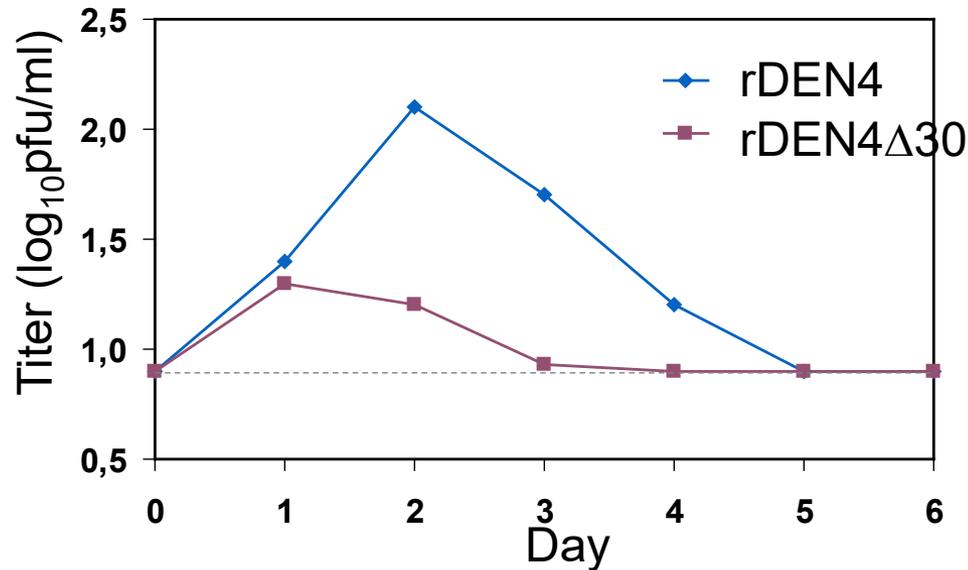
rDEN4 $\Delta$ 30:





# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

The  $\Delta 30$  mutation attenuates DEN4 for rhesus monkeys



Virus <sup>1</sup>	No. of monkeys	% with viremia	Mean no. days with viremia	Mean peak virus titer (log <sub>10</sub> pfu/ml)	Mean serum neutralizing titer <sup>2</sup>
rDEN4	8	100	3.0	2.2 ± 0.2	322
rDEN4 $\Delta$ 30	4	100	2.0	1.4 ± 0.2	154

<sup>1</sup> Monkeys were inoculated subcutaneously with 5.0 log<sub>10</sub> PFU of virus.

<sup>2</sup> Geometric mean serum neutralizing titer (reciprocal dilution) on day 28.



# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

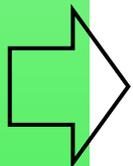
## Early rDEN4 $\Delta$ 30 Clinical trial

No. of subjects	Dose (log <sub>10</sub> )	No. inf.	No. with viremia	Mean peak titer <sup>1</sup>	Serious adverse events <sup>2</sup>	Mean neutralizing antibody titer <sup>3</sup>
20	5	20	14	1.2	none	1 : 808

<sup>1</sup> Mean peak titer (log<sub>10</sub> pfu/ml) calculated only for those volunteers with detectable viremia.

<sup>2</sup> No volunteer experienced systemic illness defined as  $\geq 2$  of the following symptoms lasting > 2 days: headache, malaise, anorexia, myalgia/arthritis, nausea, eye pain.

<sup>3</sup> Neutralizing antibody titer was determined 28 days following vaccination.



DEN4 wt highly attenuated by a genetically stable deletion mutation - good basis to begin!



# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

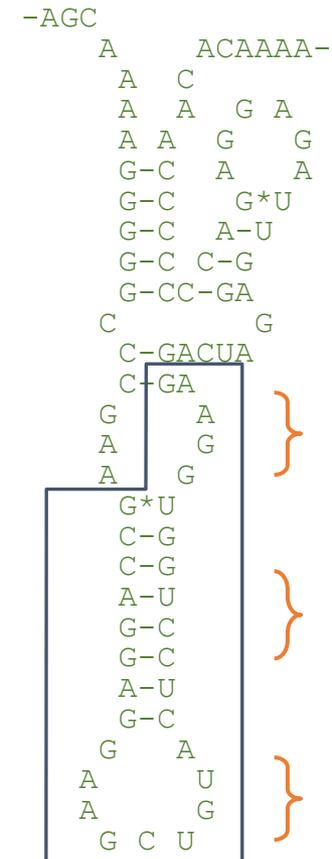
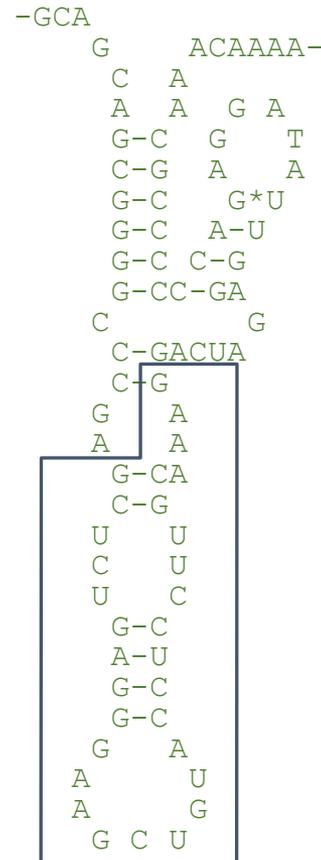
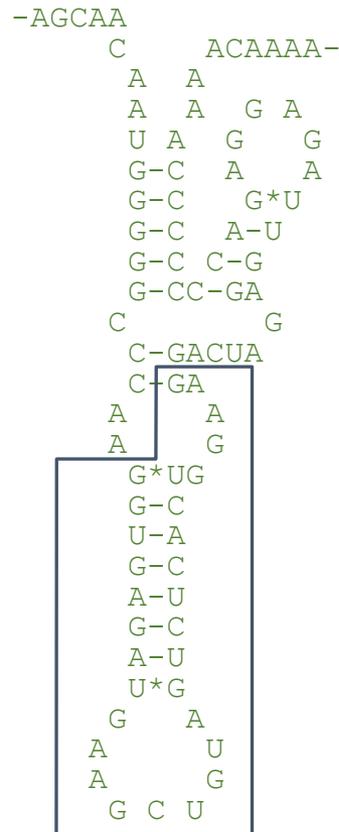
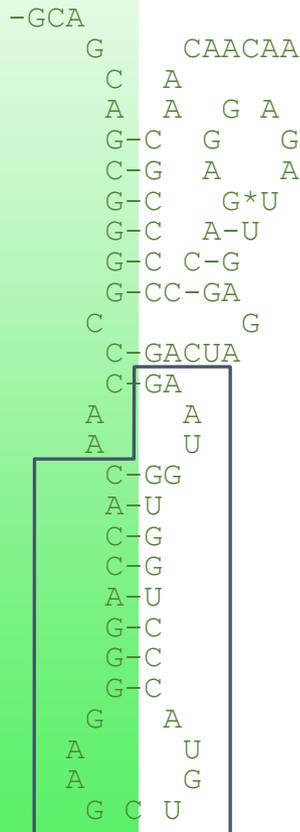
The  $\Delta 30$  mutation removes a homologous structure (TL-2) in each dengue virus serotype

DEN1

DEN2

DEN3

DEN4



Homology with other DEN types

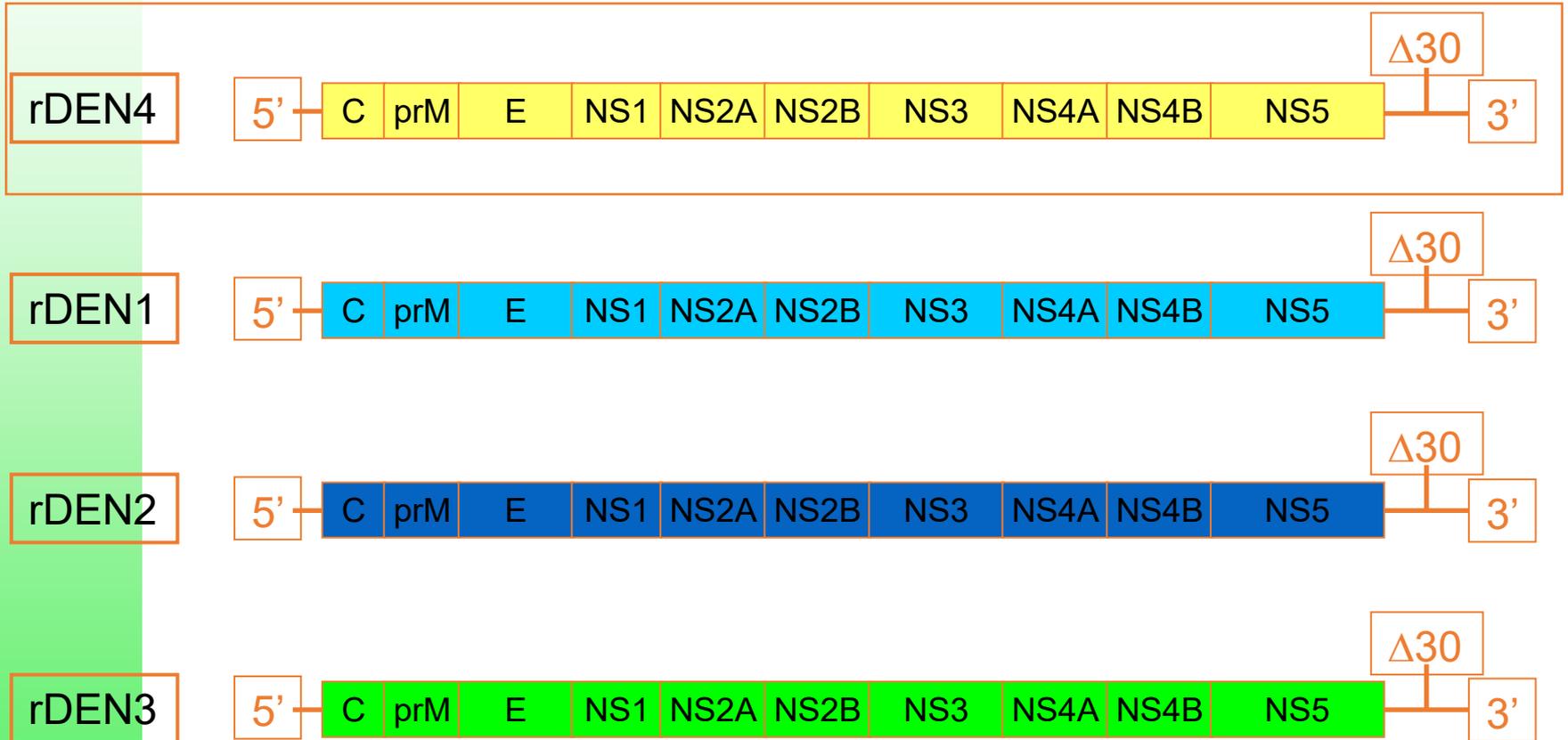
66 - 90%

38 - 66%

100%

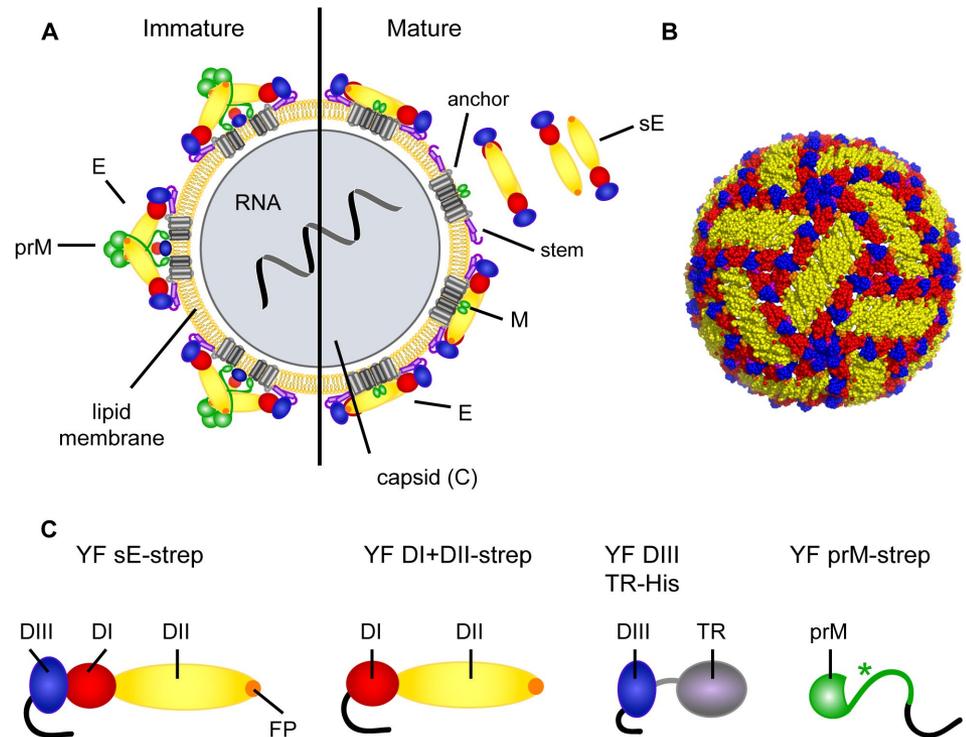
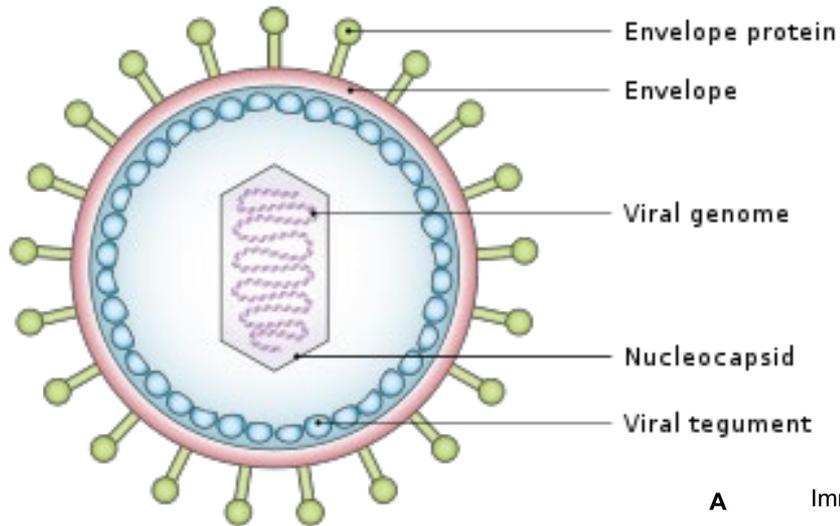


# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA



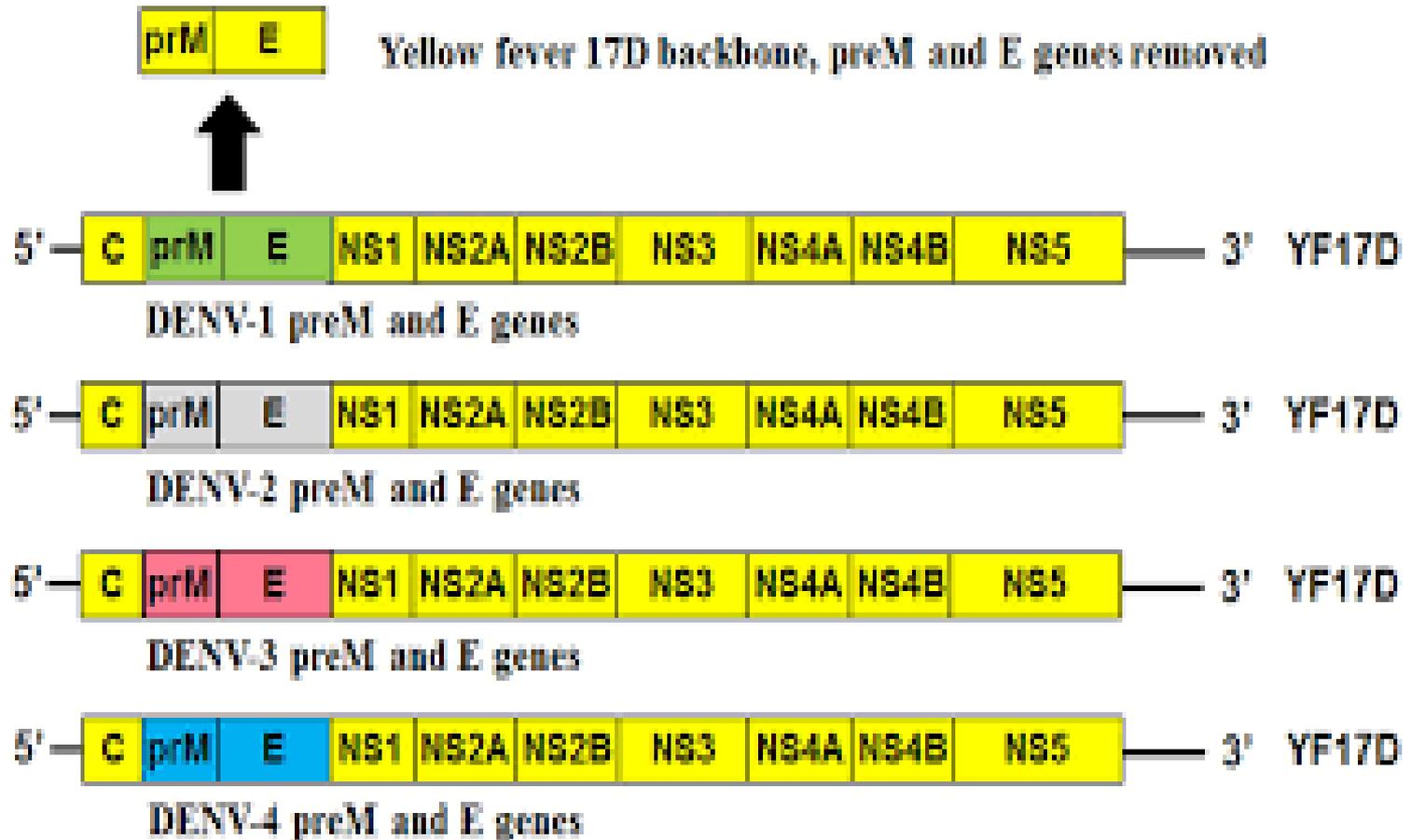


# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA



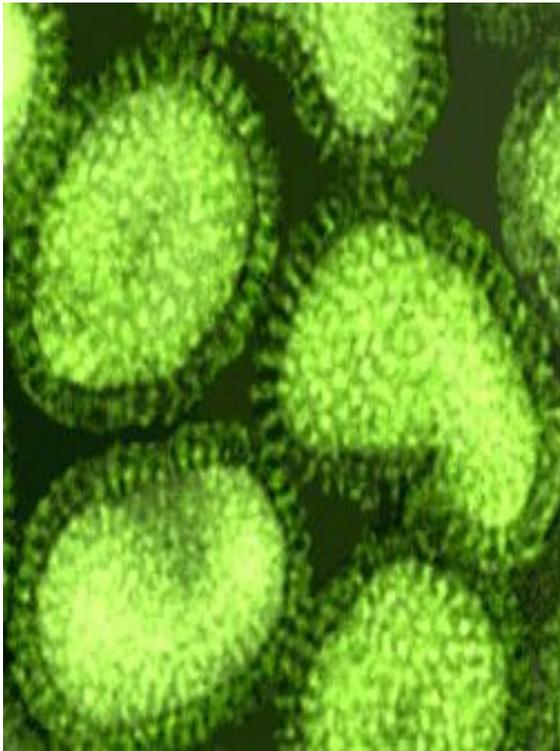


# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA





# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA



## Vacinas vetoriais

São vacinas cujo o microrganismo a ser usado carrega dentro de si genes que irão codificar e expressar proteínas de outro microrganismo também patogênico.

O microrganismo vacinal não é necessariamente patogênico.

A vantagem desta vacina é a utilização de uma única dose para várias vacinas carregadas em um único microrganismo com capacidade de se replicar.

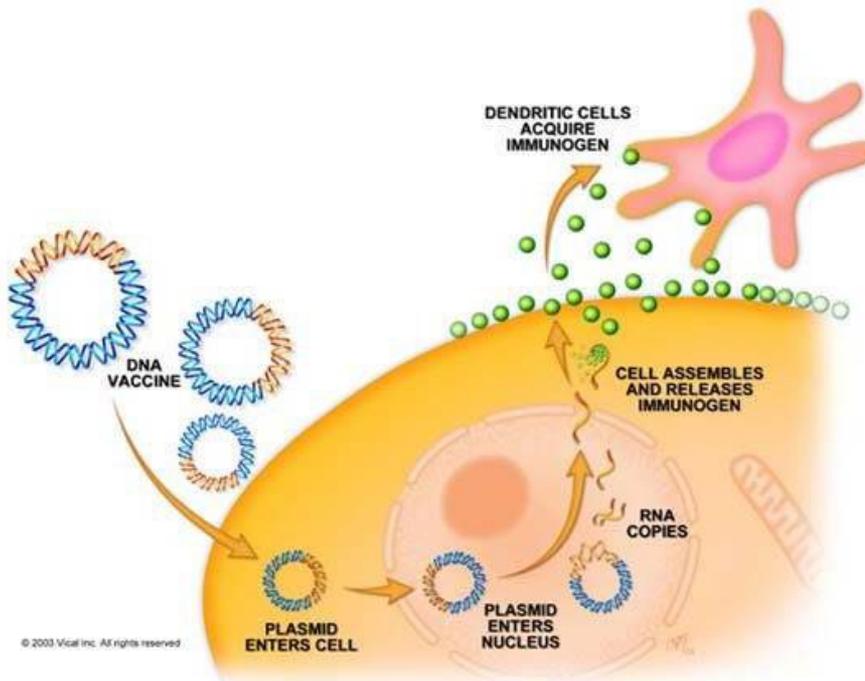


# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

## Moléculas de DNA

São plasmídeos inteiros ou fragmentos de DNA que têm potencial de expressão das proteínas ou glicoproteínas de microrganismos patogênicos.

A vantagem desta vacina é que não se manipula OGMs (Organismos Geneticamente Modificados). E são seguras sob o ponto de vista de manipulação, não apresentando risco ao meio ambiente.



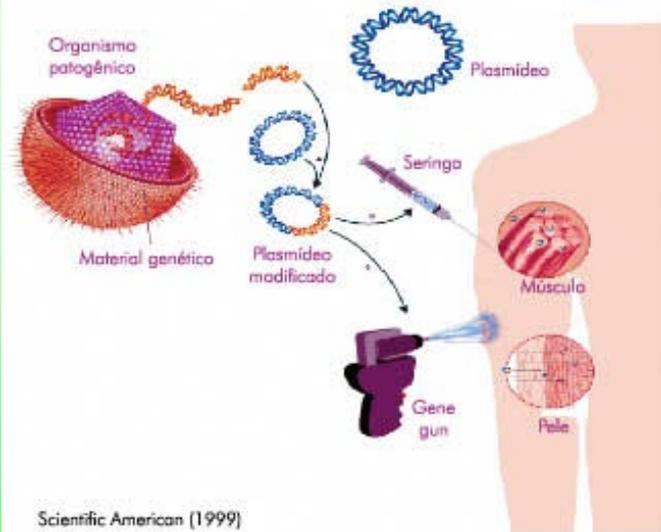


# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

## VACINAS DE DNA

As vacinas de DNA podem ser administradas por diferentes vias, rendendo respostas imunológicas mais ou menos potentes de acordo com o sistema escolhido.

A via de administração mais comumente utilizada é a injeção intramuscular direta do DNA de interesse, diluído em solução salina.





# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

## VACINAS DE DNA



Um outro processo muito explorado é o da biobalística, que consiste em usar um aparelho, o *gene gun*, para acelerar e introduzir na derme micropartículas de ouro cobertas com o DNA de interesse.

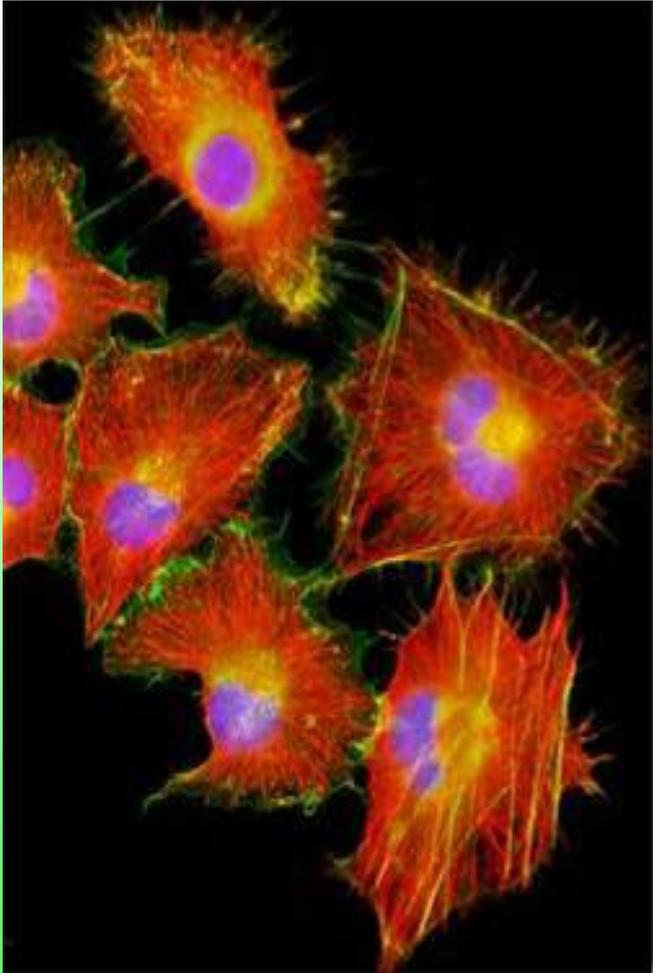
Um sistema também usado em imunização genética e terapia gênica, porém em menor escala, é a administração do DNA encapsulado em lipossomos.



# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

## VACINAS DE DNA

Atualmente, um sistema de transferência de vacinas de DNA para células hospedeiras de mamíferos que vem se mostrando promissor é o uso de bactérias carreadoras. Já foi relatada a transferência de plasmídeos por bactérias dos gêneros *Shigella*, *Listeria* e *Salmonella*, além de uma linhagem recombinante de *Escherichia coli*.





# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

## How mRNA COVID-19 Vaccines Work

### Understanding the virus that causes COVID-19.

Coronaviruses, like the one that causes COVID-19, are named for the crown-like spikes on their surface, called **spike proteins**. These **spike proteins** are ideal targets for vaccines.

### What is mRNA?

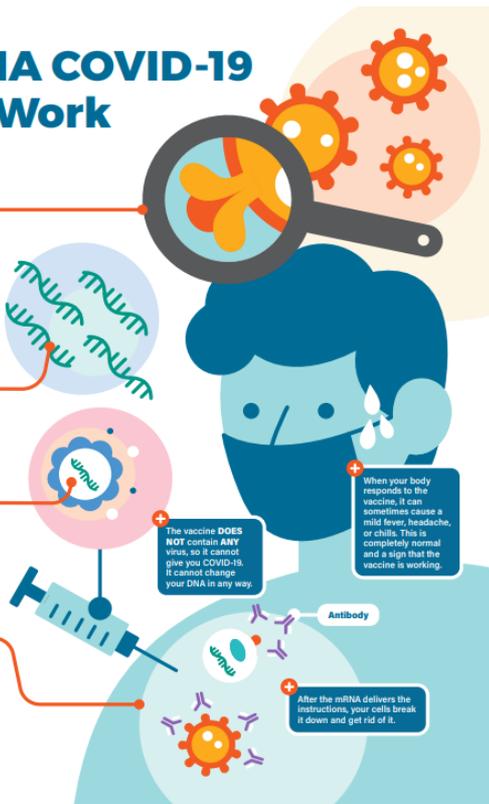
Messenger RNA, or mRNA, is genetic material that tells your body how to make proteins.

### What is in the vaccine?

The vaccine is made of mRNA wrapped in a coating that makes delivery easy and keeps the body from damaging it.

### How does the vaccine work?

The mRNA in the vaccine teaches your cells how to make copies of the **spike protein**. If you are exposed to the real virus later, your body will recognize it and know how to fight it off.



### GETTING VACCINATED?

For information about COVID-19 vaccine, visit: [cdc.gov/coronavirus/vaccines](https://www.cdc.gov/coronavirus/vaccines)



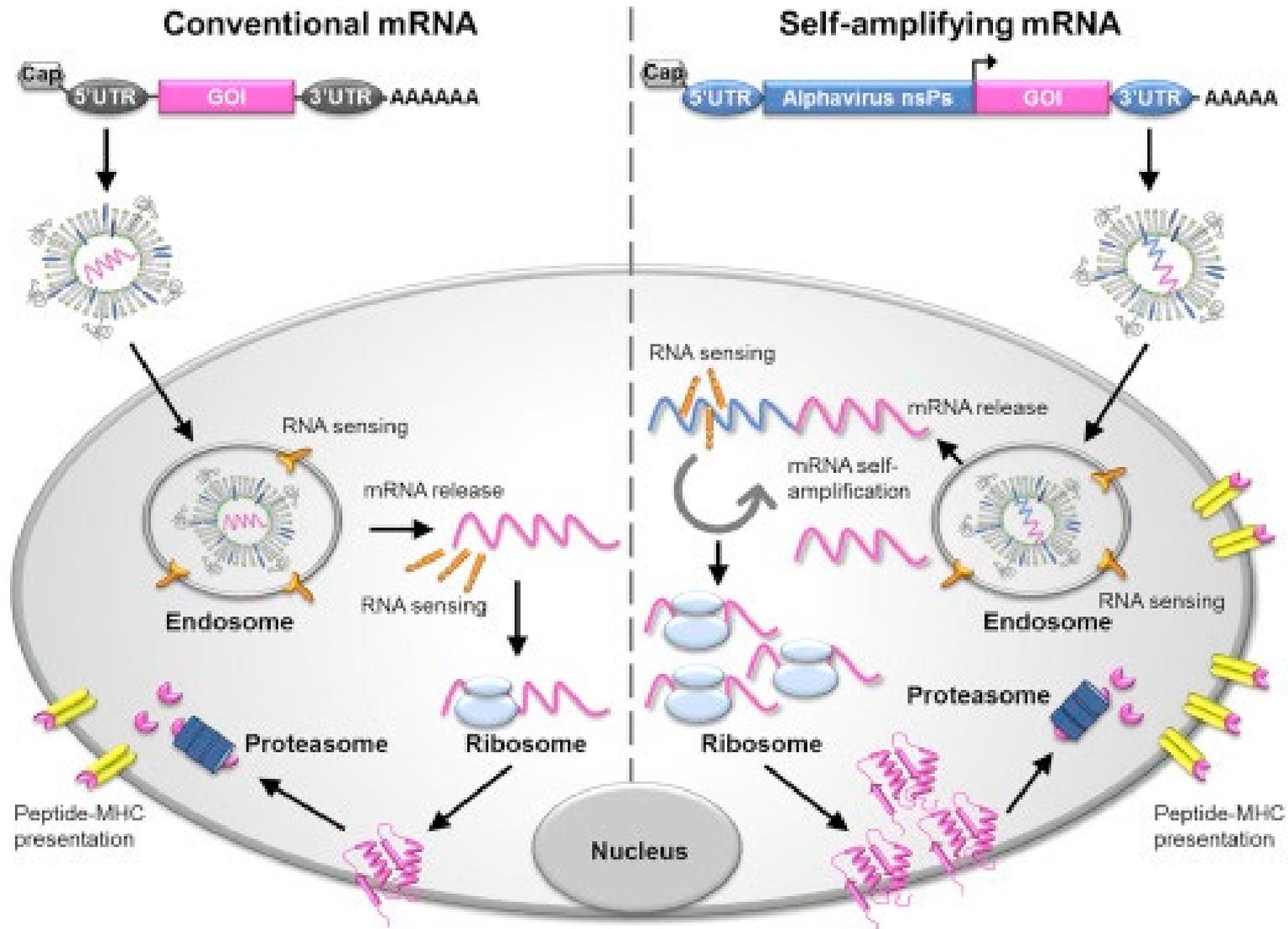
## VACINAS DE mRNA

Os RNAs mensageiros (mRNAs) são uma classe emergente de bioterapêuticos. Embora sejam uma promessa considerável, o campo ainda está em sua infância. As terapias de mRNA oferecem uma nova oportunidade para o tratamento direcionado de doenças desafiadoras e fabricação flexível, conforme demonstrado pelo rápido desenvolvimento de vacinas de mRNA contra COVID-19. O potencial clínico do mRNA se estende além das vacinas para outras terapias avançadas, como substituição de proteínas, terapia gênica e imunoterapia contra o câncer.



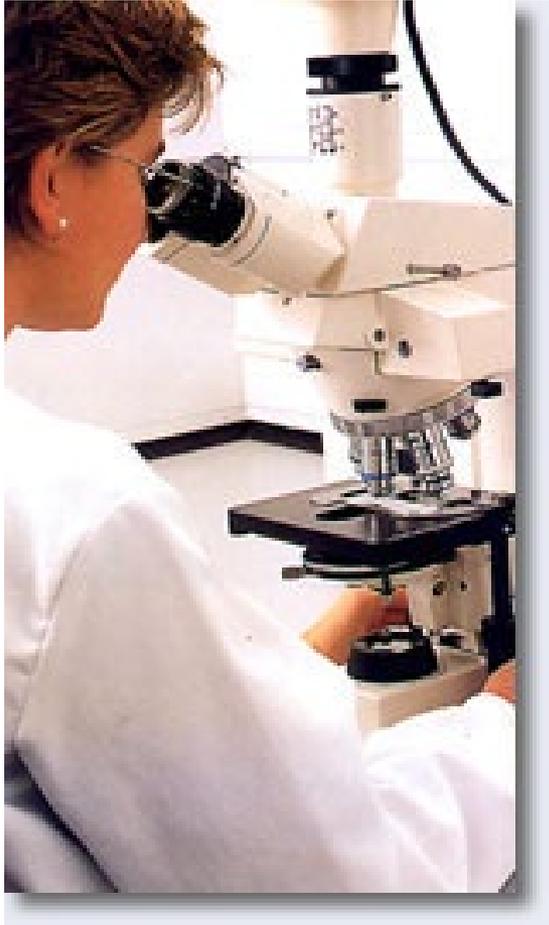
# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

## VACINAS DE mRNA





# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA



## **Desafios das Vacinas Gênicas**

- a) Riscos ambientais
- b) Legislação de Biossegurança
- c) Controle de Qualidade
- d) Custo X Eficiência
- e) Eficácia X Segurança



# VACINAS DERIVADAS DE MANIPULAÇÃO GÊNICA

## DESIGN DE UMA VACINA



**Dose de Antígeno**

**Uso de Adjuvante**

**Rota de Imunização**

**Tipo de Antígeno**

**Pré-conhecimento genético do hospedeiro**

**Status Imunológico do hospedeiro**

**Idade do hospedeiro**