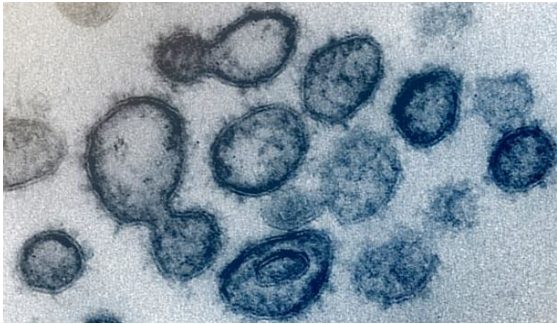


# COVID-19 için Griffithsin (GRFT) Temelli Antiviral Yaklaşım Geliştirilmesi ve Terapötik Etkinliğinin Sorgulanması



Aykut ÖZKUL  
Ankara Üniversitesi



# Proje Konsorsiyumu (Alfabetik)



- **Ankara Üniversitesi**

- Biyoteknoloji Enstitüsü (Aykut Özkul, Demet Cansaran Duman, E. Doruk Engin, Erkan Yılmaz)
- Eczacılık Fakültesi (Asuman Bozkır)
- Veteriner Fakültesi (Aykut Özkul, T. Çiğdem Oğuzoğlu)



**unam**

- **Bilkent Üniversitesi UNAM**

- UNAM (Urartu Özgür Şafak Şeker)



- **Hacettepe Üniversitesi**

- Tıp Fakültesi (Koray Ergünay)

# Amaç

- COVID-19, global pandemi etkeni olarak tüm dünyada hız kesmeden etkisini sürdürmektedir. An itibarıyla dünya genelinde insanlarda yaklaşık 940.000 klinik ve laboratuvar tanısı konmuş olgudan ve yaklaşık %5 oranında fataliteden sorumlu bir ajan olarak hüküm süren bu etkene karşı kabul edilmiş bir etkin bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır.
- Sunulan bu araştırma projesinin amacı; **COVID-19'a karşı kullanılabilecek spesifik olmayan doğal lektin Griffithsin derivelerinin (engineered) elde edilmesi, antiviral ve tercihan terapötik etkinliklerinin in vitro ve in vivo olarak sorgulanmasıdır.**

# İş Paketleri

**1- Türkiye’de sirküle olan SARS CoV-2’nin izole edilmesi ve karakterizasyonu (genetik ve antijenik) gerçekleştirilecektir.**

1a- Hücre kültürü ve deneme hayvanı inokulasyonu

1b- İn vitro enfektivite testleri

1c- Araştırma alt yapısında mevcut transjenik IFNAR-/- farelerdeki enfektivite testleri

1d- Virüs tüm genom dizin analizi.

**2- Griffithsin (GRFT) üretimi ve saflaştırılması**

**3- Sentezlenen GRFT için in vitro/in vivo toksisite/etkilerinin tespiti**

**4- Terapötik etkinliği tespit edilen moleküllere ilişkin formülasyon geliştirilmesi**

**5- Antiviral ve Terapötik etkinlik testleri**

5a- İn vitro etkinlik denemeleri

5b- İn vivo etkinlik denemeleri (SARS CoV-2 ile enfekte IFNAR-/- farelerde viral yük tayini, klinik hastalık sürecinin takibi, makro- ve mikropatolojik muayeneler, IHC)



# Alternatif Antiviral Yaklaşım-Lektinler

- Şu anda viral hastalıkları tedavi etmenin alternatif bir yolu olarak, zarf glikoproteinlerinin yüzeyinde bulunan glikanları, hedefleyebilen proteinlerin yani lektinler kullanılmaktadır.

Lusvarghi et al, 2016

- Lektinler, mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlarda bulunan şeker bağlayıcı proteinlerdir.
- Hücre-hücre etkileşimleri ve protein katlanması gibi birçok önemli hücresel sürece katılırlar.
- Lektinler, hücre yüzeyi yapısını ve fonksiyonlarını araştırmak için prob olarak da geniş ölçüde kullanılmış, ayrıca antiviral ilaçlar olarak ve kemoterapötik ajanların verilmesinde uygulamalar bulmuşlardır.

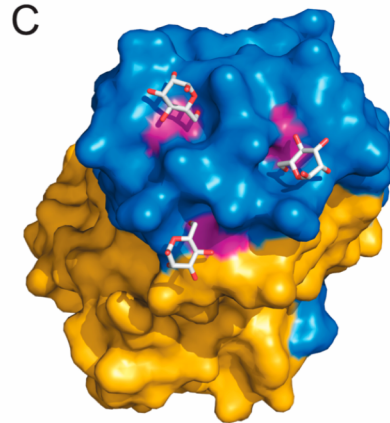
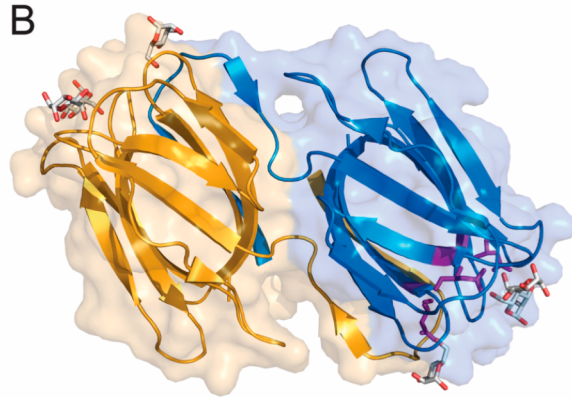
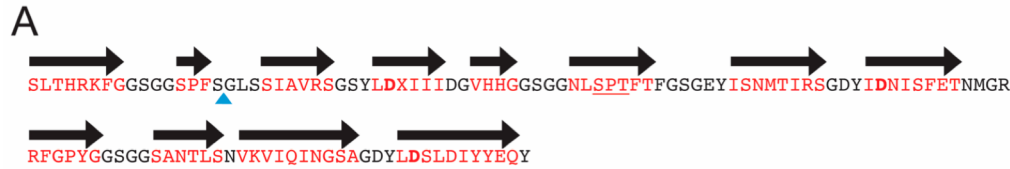
Bermejo-Jambrina et al, 2018

- Zarf glikoproteinlerinin yüzeyinde yaygın olarak bulunan yüksek mannozlu glikanları bağlayabilen bir dizi lektin, şu anda mikrobisid olarak kullanılmak üzere araştırılmaktadır.
- En umut verici antiviral lektinlerden bazıları griffithsin (GRFT), siyanovirin (CV-N) ve muz lektini (BanLec) içerir.

Lusvarghi et al, 2016

# Griffithsin (GRFT)

GRFT, her biri 121 aa'den oluşan homodimer.



A- Doğal GRFT sekansı  
B- GRFT dimerik yapısı  
C- Mannoz bağlanma noktaları  
(Asparjin)



Kırmızı Alg

# Griffithsin (GRFT) Üretim ve Antiviral Değeri

**Table 1.** Recombinant expression of griffithsin.

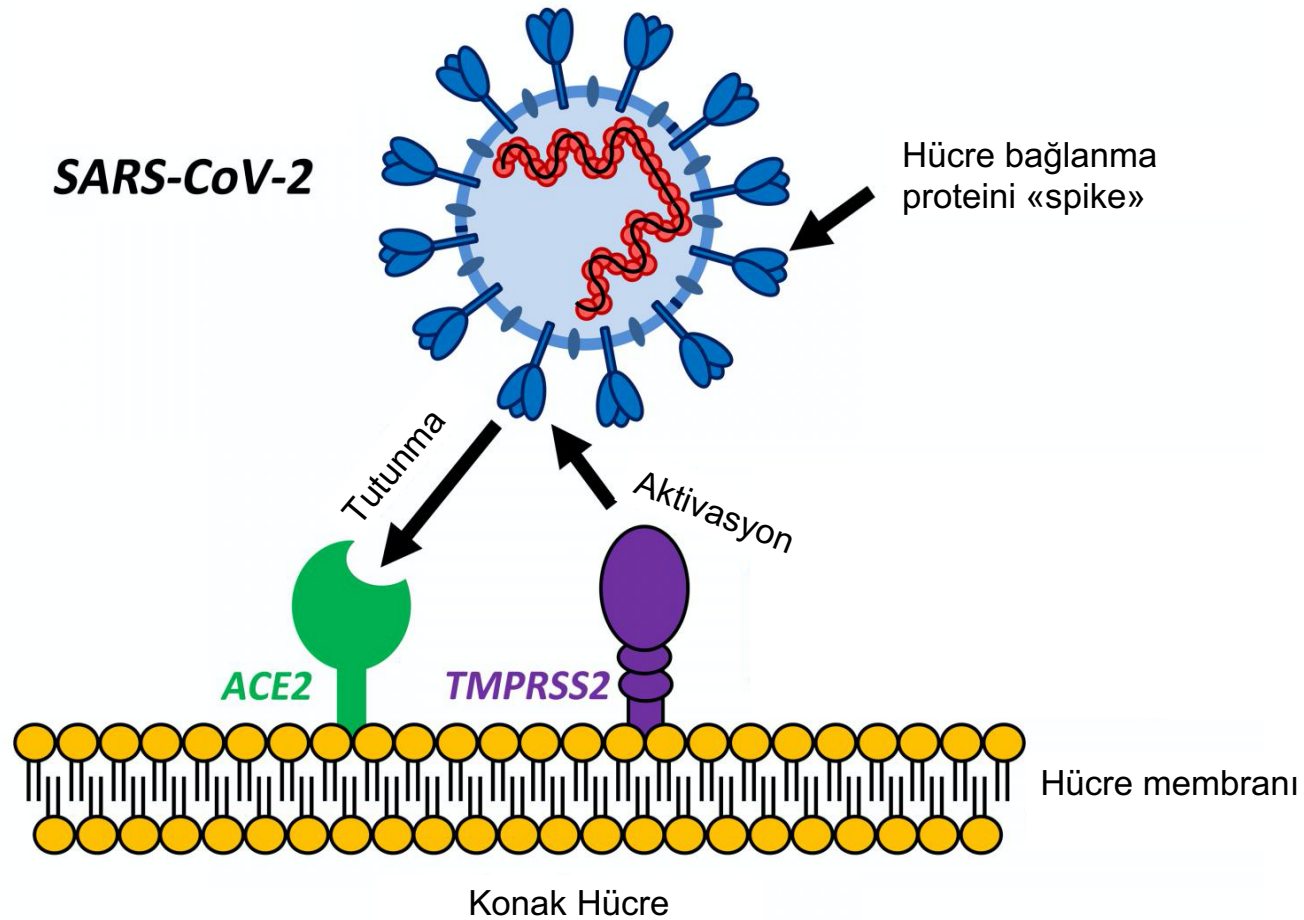
Expression System	Yield	Recovery after Purification	Ref.
<i>E. coli</i> BL21(DE3)—shake flasks	12 mg/L		[10]
<i>E. coli</i> BL21(DE3)—fermenter	819 mg/L	542 mg/L	[10]
Tobacco leaves ( <i>Nicotiana benthamiana</i> )	1 g/kg leaf	300 mg/kg	[11]
Rice seeds ( <i>Oryza sativa</i> endosperm)	301 mg/kg dry seed	223 mg/kg	[13]

**Table 2.** Effective concentrations to inhibit 50% of virus infection (EC<sub>50</sub>) of GRFT against different viruses.

Sample	Virus <sup>a</sup>	Target Cell <sup>b</sup>	EC <sub>50</sub> (nM)	Ref.
Native GRFT	HIV-1 <sub>RF</sub>	CEM-SS	0.043	[9]
Recombinant GRFT	HIV-1 <sub>RF</sub>	CEM-SS	0.039	[9]
Native GRFT	HIV-1 <sub>RoJo</sub>	PBMC	0.63	[9]
Native GRFT	HIV-1 <sub>ADA</sub>	Macrophage	0.5	[9]
Native GRFT	HIV-1 <sub>Ba-L</sub>	Macrophage	0.098	[9]
Recombinant GRFT	HIV-1 <sub>Ba-L</sub>	PMBC	0.01	[28]
Recombinant GRFT	HIV-1 <sub>LAI</sub>	MT-4	0.01	[28]
Recombinant GRFT	HIV-2 <sub>ROD</sub>	MT-4	0.17	[29]
Recombinant GRFT	SIV <sub>mac251</sub>	CEMx174	0.35	[28]
Recombinant GRFT	SARS-CoV <sub>200300592</sub>	Vero 76	280	[15]
Recombinant GRFT	SARS-CoV <sub>200300592</sub>	Vero 76	960	[15]
Recombinant GRFT	SARS-CoV <sub>Urbani</sub>	Vero 76	48	[30]
Recombinant GRFT	SARS-CoV <sub>Tor-II</sub>	Vero 76	48	[30]
Recombinant GRFT	SARS-CoV <sub>CuHK</sub>	Vero 76	61	[30]
Recombinant GRFT	SARS-CoV <sub>Frank</sub>	Vero 76	94	[30]
Recombinant GRFT	HCV <sub>JFH1</sub>	Huh-7	13.9	[31]
Recombinant GRFT	HCV <sub>JFH-1</sub>	Huh 7.5.1	0.4	[32]
Recombinant GRFT	JEV	BHK-21	20	[33]
Recombinant GRFT	HPV <sub>16 PsV</sub>	HeLa	1390	[34]
Recombinant GRFT	HPV <sub>18 PsV</sub>	HeLa	428	[34]
Recombinant GRFT	HPV <sub>45 PsV</sub>	HeLa	928	[34]

<sup>a</sup> HIV-1: human immunodeficiency virus type 1; HIV-2: human immunodeficiency virus type 2; SIV: simian immunodeficiency virus; SARS-CoV: severe acute respiratory syndrome corona virus; HCV: hepatitis C virus; JEV: Japanese encephalitis virus; HPV: human papillomavirus. <sup>b</sup> CEM-SS: human T-lymphoblastoid cell line; PBMC: peripheral blood mononuclear cell; BHK-21: baby hamster kidney fibroblasts; MT-4 human T cells isolated from a patient with adult T cell leukemia; CEMx174: somatic cell hybrid culture between CEM and B cell like 174 both of human origin; Vero 76: kidney epithelial cells extracted from an African green monkey; Huh: differentiated hepatocyte-derived carcinoma cell line.

# SARS-CoV-2 Enfeksiyon Başlangıcı

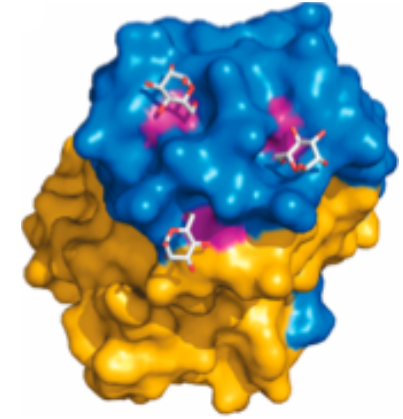
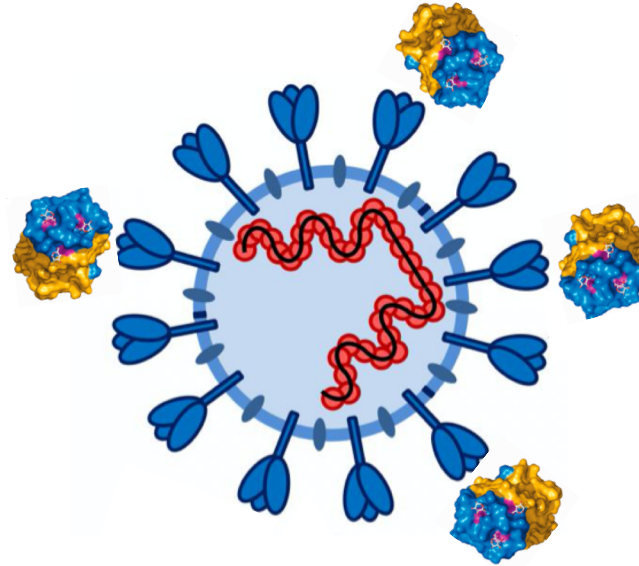


# Hipotez-1

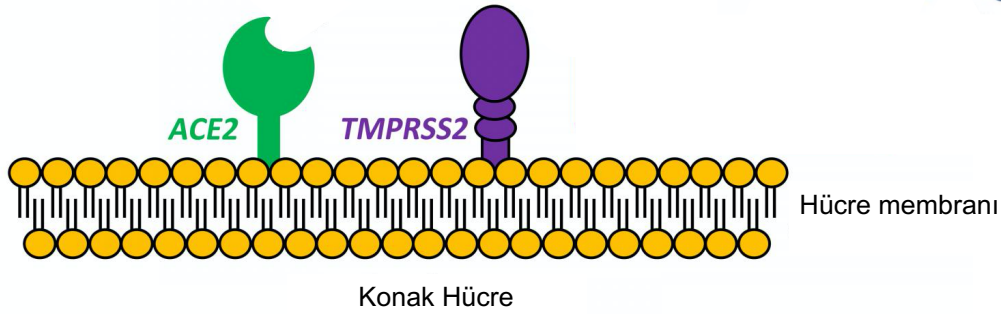
SARS-CoV2



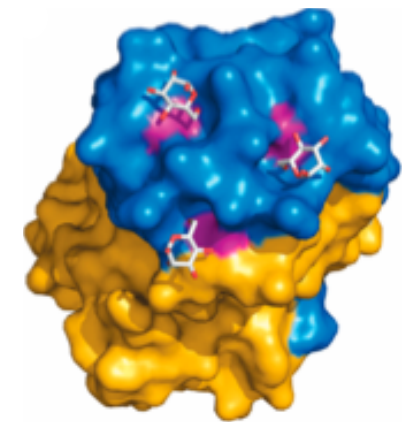
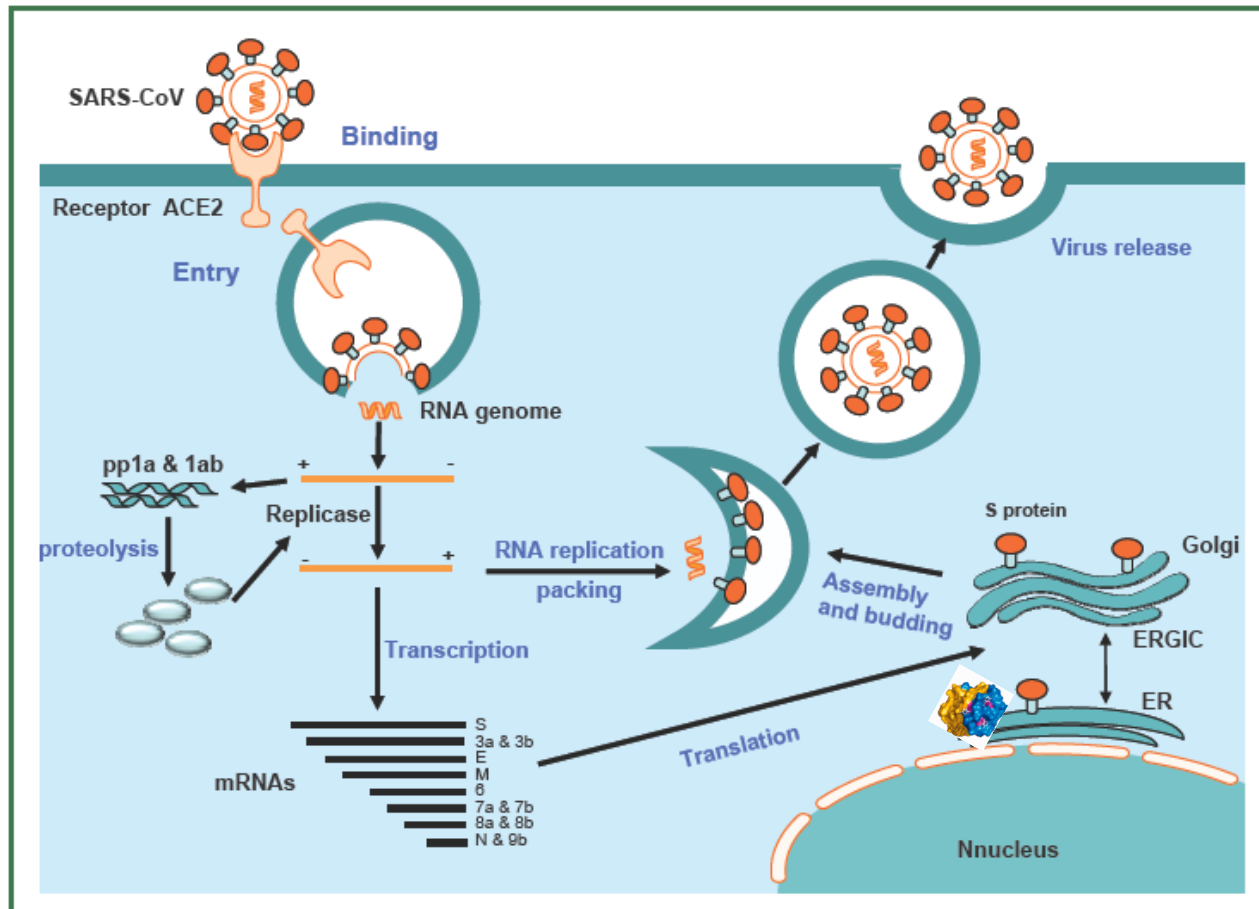
\* Asparjin ilişkili glikolizasyon alanları



GRFT



# Hipotez-2



**GRFT-Derivatları  
(Engineered GRFT)**

# Yetkinliğimizi Nereden Alıyoruz?

- Sahip olduğumuz araştırma öngörüsü ve kapasitesi yüksek bilim insanları,
- Üst düzey işlevsel donanım alt yapısı (BSL-3, ABSL-3)
- Virüs izolasyonu ve karakterizasyonu tecrübesi
- Metagenomik araştırma tecrübesi, çok sayıda yeni virüs deklarasyonu
- İlaç/Etken madde in vitro in vivo test olasılıkları
- Aşı çalışmaları



# KKKA Aşı Öngörülü Biyoteknoloji Araştırmaları



Article

## Co-Delivery Effect of C and Lethal Challenge Protein Expressing Nucleocapsid Hemorrhagic Fever Virus

Touraj Aligholipour Farzani <sup>1</sup> , Alireza Hashemi Erkan Yilmaz <sup>3</sup>, Hiba Hashim Mohamed Ali

- <sup>1</sup> Virology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Ankara University, 06110 Ankara, Turkey; touraj.farzani@gmail.com (T.A.F.); alireza.hashemi@hacettepe.edu.tr (A.H.); hibahashim@yahoo.com (H.H.M.A.)
- <sup>2</sup> Virology Unit, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Hacettepe University, 06100 Ankara, Turkey; ekoray@hacettepe.edu.tr
- <sup>3</sup> Biotechnology Institute, Ankara University, 06560 Ankara, Turkey

\* Correspondence: ozkul@ankara.edu.tr; Tel.: +90 312 311 12 34

Received: 26 November 2018; Accepted: 12 January 2019



Article

## Immunological Analysis of a CCHFV mRNA Vaccine Candidate in Mouse Models

Touraj Aligholipour Farzani <sup>1</sup> , Katalin Földes <sup>1</sup> , Koray Ergünay <sup>2</sup> , Hakan Gurdal <sup>3</sup>, Aliye Bastug <sup>4</sup> and Aykut Ozkul <sup>1,5,\*</sup>

- <sup>1</sup> Virology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Ankara University, 06110 Ankara, Turkey; touraj.farzani@gmail.com (T.A.F.); fldeskatalin@gmail.com (K.F.)
  - <sup>2</sup> Virology Unit, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Hacettepe University, 06100 Ankara, Turkey; ekoray@hacettepe.edu.tr
  - <sup>3</sup> Pharmacology Department, Faculty of Medicine, Ankara University, 06100 Ankara, Turkey; Hakan.Gurdal@medicine.ankara.edu.tr
  - <sup>4</sup> Infectious Disease Department, Ankara Numune Training and Research Hospital, 06800 Ankara, Turkey; dr.aliye@yahoo.com
  - <sup>5</sup> Biotechnology Institute, Ankara University, 06560 Ankara, Turkey
- \* Correspondence: ozkul@ankara.edu.tr

Received: 30 July 2019; Accepted: 11 September 2019; Published: 16 September 2019



## Vector Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Challenge in

hanezhad <sup>1</sup>, Burcu Yener Ilce <sup>2</sup>, Feray Alkan <sup>1</sup>,

city, Ankara 06110, Turkey; za.hanifehnezhad@gmail.com (A.H.); karaoglu@gmail.com (T.K.); yener@ankara.edu.tr (B.Y.I.);

cine, Hacettepe University, ing and Research Hospital,

2019





Çalışma Grubumuz adına;

- TÜBİTAK
- Bize destek veren herkese

# Teşekkür Ederim

