

## Özet

Hepatit B, hepatit B virusu tarafından oluşturulan bir enfeksiyon hastalığıdır. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre, tüm dünyada iki milyar insan enfeksiyona yakalandığı, 350 milyon insanda enfeksiyonun kronikleştiği düşünülmektedir. HBV enfeksiyonunun komplikasyonu olarak siroz ve karaciğer kanserinden ölen insan sayısının 600,000 dolaylarında olduğu tahmin edilmektedir. Hepatit B'nin böylesine büyük bir küresel halk sağlığı sorunu olması şaşırtıcı değildir. HBV'nun HIV'den 50 – 100 kat daha bulaşıcı olduğu bilinmektedir. Bu nedenle HBV enfeksiyonunun tanısının konulması için duyarlılığı yüksek testlerin kullanılması büyük önem taşımaktadır. Kitlesel taramalarda ve hastalığın takibinde kullanılan en önemli testler, HBV yüzey antijeni (HBsAg, HBVgp2) ile bu antijene karşı oluşan antikor yanıtının ölçülmesini sağlayan ELISA tabanlı kalitatif ve kantitatif testlerdir. RNA aracılı bir replikasyon döngüsüne sahip olan HBV'nun tüm genomunda ve özellikle HBVgp2 geninde mutasyonlar belirli bir hızda oluşmakta ve konakçıda seçilime uğramaktadır. HBsAg majör hidrofilik bölgesi başta olmak üzere, tüm HBVgp2 peptidi boyunca mutasyonlar saptanmıştır. Bu mutasyonların HBsAg ve anti-HBsAg antikorını saptamada ve düzeylerinin ölçümünde kullanılan tanısallık testlerin duyarlılıklarını etkilediği bir çok çalışma grubu tarafından bildirilmektedir. Bu durumda, hepatit B tanısında kullanılacak testlerin geliştirilme süreci, majör HBsAg serotiplerini duyarlı şekilde tanımanın yanı sıra, yeni tanımlanacak olan mutasyonların oluşturacağı yeni serotipleri de kapsayacak şekilde revize edilmesini de içermektedir.

Bu projede HBsAg ve anti-HBsAg antikorları ELISA testlerinin geliştirilmesinde kullanılacak rekombinant HBVgp2 proteinin sentezi ve saflaştırılması için süreç kurulacaktır. HBV enfekte hücre hatlarından elde edilecek HBVgp2 kalıbı üzerinde yönlendirilmiş mutageniz teknikleri uygulanarak HBsAg genotipleri oluşturulacaktır. Bakteriyel ve maya ekspresyon sistemleri kullanılarak elde edilen rekombinant HBsAg'nin immünoreaktif konformasyonda elde edilmesi için ifadenme ve saflaştırma basamakları optimize edilecektir.

## Abstract

Hepatitis B is an infectious disease caused by hepatitis B virus. According to World Health Organization, 2 billion of people has been infected with HBV, 350 million has acquired chronic infection. It has been estimated that, 600,000 people die annually, who has developed complications such as cirrhosis and hepatocellular carcinoma. It is not surprising that hepatitis B is a global health

problem, as HBV is 50 – 100 times more infectious than HIV. For this reason, highly sensitive diagnostic tests are needed. ELISA based tests targeting the detection and quantitation of both hepatitis B surface antigen (HBsAg, HBVgp2) and anti-HBsAg antibodies are widely used for screening of the population and for monitoring the follow up patients. RNA mediated replication cycle of HBV enhance the mutation rate in HBV genome and especially in HBVgp2 under selective pressure. There are numerous reports of HBVgp2 mutations, particularly affecting the major hydrophilic loop of HBsAg, that hinder the sensitivity of diagnostic tests. Therefore, diagnostic HBV test development is a ceaseless process as one should consider to revise and cover newly defined mutations along with the well known genotypes to the test system.

In this project, we aim to produce recombinant HBVgp2 protein that is intended to be used in the development of HBsAg and anti-HBsAg antibody ELISA tests. HBV infected hepatoma cell lines will be used as source for HBVgp2 template. Once HBVgp2 cloned, HBsAg genotypes will be constructed by using multiple rounds of site directed mutagenesis experiments. These constructed HBVgp2 genes will be expressed in bacterial and yeast systems. Whole process will be optimized in order to obtain immunoreactive recombinant HBsAg protein.