بسمه تعالی

سرمقاله

دکتر محمود جدی تهرانـی

ضمن عرض تبریک سال نو حضور همکاران گرامی، از خداوند متعال سلامت و موفقیت تمامی آن عزیزان را خواهانم.

دومین شماره ماهنامه آنتی‌بادی منوکلونـال حـاوی مطالـب متنـوع علمی و خبری در دسترس شما عزیزان قرار می گیرد . امید است بـا نظرات و پیشنهادات خود ما را در ارایه هر چه بهتر این ماهنامه یاری فرمایید.

مرکز تحقیقات آنتی بادی منوکلونال که از حدود یکسال و نـیم قبـل فعالیتهای خود را آغاز نمـوده اسـت، اینـک بـا در اختیـار داشـتن دو آزمایشـگاه مجهـز کشـت سـلولی و نیـز آزمایشـگاههای مختلـف سرولوژی، شیمی پروتئین و ایمونولوژی، مجهز به کلیه دسـتگاههای مورد نیاز، برای تولید آنتی بـادی منوکلونـال و پلـی‌کلونـال از وجـود پرسنل متخصص و ماهر جهت اجرای پروژه‌های تحقیقاتی و تولیدی بهره می‌برد. در این مرکز امکان تهیه و تخلیص انواع آنتی‌بادی‌هـای منوکلونال و پلی‌کلونال، تهیه کونژوگه‌های آنزیمـی و فلئورسـانس و نیز تعیین خصوصیات این آنتی‌بادی‌ها و آنتی‌ژن‌های هدف آنها وجود دارد. این مرکز همچنین عضو شـبکه بیوتکنولـوژی پزشـکی کشـور می‌باشد و در این راستا و با همکاری شبکه مزبور موفـق شـده اسـت با برگـزاری **کارگاه تئوری_عملی تولیـد آنتـی‌بـادی منوکلونـال** گروهی از علاقمندان به فراگیری تولید این آنتـی بادیهـا را آمـوزش دهد. امید آن می‌رود این کارگاههای آموزشی هر چـه پربـارتر تـداوم یابند. علاقه‌مندان به فراگیری روش تولید آنتـی‌بادیهـای منوکلونـال می‌توانند جهت اخذ اطلاعات بیشتر با این مرکز تماس بگیرند و نیـز **محققین محترمی که نیاز به تولید آنتـی‌بادیهـای منوکلونـال و پلی‌کلونال در پروژه‌های تحقیقاتی خـود دارنـد مـی‌تواننـد از طریق تلفن، فاکس و یا پست الکترونیکی که در این ماهنامـه درج گردیده است با این مرکز تماس حاصل نمایند** و اطلاعات ضروری را دریافت دارند تا در این راستا هماهنگی‌های لازم صـورت پذیرد.

با آرزوی موفقیت تمامی همکاران

صاحب امتیاز: پژوهشکده ابن سینا
مدیر مسئول: دکتر محمود جدی تهرانی
سر دبیر: دکتر پونه دوکوهکی
شورای علمی نشریه (به ترتیب حروف الفبا):
دکتر رضا بهجتی، علی احمد بیات، دکتر محمود جدی تهرانی، د کتر لیلی چمنی، دکتر پونه دوکوهکی، دکتر امیر حسن زرنانی، دکتر محمد رضا صادقی، دکتر علی اکبر صبور یراقی، رویا قدس
مدیر داخلی: شمیسه اسکندری
همکاران اجرایی: پروانه احمدی، ناصر رحیمی، ابوالفضل علیزاده، مژده مظهری
طراحی روی جلد: مونا سراجی
گسترهٔ توزیع: سراسر کشور
ترتیب انتشار: ماهنامه
روش: خبری، آموزشی
این نشریه برای شنیدن هر گونه اظهار نظر، پیشنهاد، انتقاد سازنده اعلام آمادگی می‌نماید. علاقمندان می‌توانند نقطه نظرات خود را به نشانی زیر ارسال نمایند.
تهران: بزرگراه شهید چمران، دانشگاه شهید بهشتی، انتهای بلوار
تهران: صندوق پستی، ۱۷۷– ۱۹۸۳۵
تلفن: ۲۴۰۲۰۱۱ فاکس: ۲۴۰۳۶۴۱
E-mail: jmab@avesina.org

تولید آنتی‌بادی در گیاهان

دکتر امیر حسن زرنانی

آنتی‌بادیها مولکولهایی هستند که از نظر بیولوژیک بسیار فعال بوده و به دلیل اتصال اختصاصی آنها به لیگاند مورد نظر کاربردهای بالقوه فراوان دارند. از جمله کاربردهای آنها می‌توان به تشخیص بیماری، درمان، شناسایی و حذف آلوده کننده‌های محیطی، کنترل عوامل بیماریزا و تخلیص مولکولهای پروتئینی اشاره کرد. این مولکولها همچنین جزء لاینفک تحقیقات پزشکی به شمار می‌روند. رایج‌ترین و قدیمی‌ترین روش تولید آنتی‌بادیهای منوکلونال، تکنیک هیبریدوما است. این تکنیک در حدود ۲۸ سال پیش توسط Milestein و Kohler ابداع شد. پس از آن روشهای دیگری برای تولید آنتی‌بادیهای منوکلونال ابداع شده است که از آن جمله می‌توان به سیستم‌های بیان باکتریایی و گیاهی اشاره کرد. تولید اولین آنتی‌بادی نوترکیب منوکلونال در سیستم‌های گیاهی (Plantbodies) به بیش از یک دهۀ پیش برمی‌گردد. پس از آن این سیستم برای تولید آنتی‌بادیهای مختلف و اشکال مختلف آنتی‌بادی استفاده شده است. به عنوان مثال IgG کامل، آنتی‌بادی کایمریک IgG/A، IgG/A ترشحی، قطعه تک زنجیره‌ای FV(SCFV)، قطعات Fab و دومن‌های متغیر زنجیر سنگین از جمله اشکال مختلف آنتی‌بادیها هستند که در گیاهان ترانس‌ژن تولید شده‌اند. اخیراً تولید آنتی‌بادیهایی با دو ویژگی متفاوت (bispecific) در گیاهان ترانس‌ژن از طریق اتصال دو قطعۀ مختلف SCFV به یک قطعۀ اتصالی با موفقیت انجام شده است. هر قطعۀ Fab در این آنتی‌بادیها دارای ویژگی علیه یک اپی‌تپ خاص است و لذا این آنتی‌بادیها قادرند بطور همزمان دو اپی‌تپ مختلف را مورد شناسایی قرار دهند و به آنها وصل شوند. یکی از موارد استفاده بالقوه این آنتی‌بادیها شناسایی اپی‌تپ‌هایی در سلولهای سرطانی و سلولهای سیستم ایمنی است. این امر امکان نزدیک‌تر شدن دو سلول به یکدیگر و شناسایی بهتر سلولهای سرطانی را فراهم خواهد ساخت. در سیستم‌های بیان گیاهی، از روش‌های مختلفی نظیر بمباران ژنی، قرار دادن ژن مورد نظر از طریق نوترکیبی همولوگ (Homologous recombination) در فضای بین ژنهای فعال گیاه، و یا ترانسفورم کردن گیاه با باکتریهای ترانس‌ژن نظیر Agarobacterium استفاده می‌شود. **از زمان پیدایش این تکنیک، پلانت بادی‌های مختلفی با ویژگی متنوع تولید شده است که از آن جمله می‌توان به آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژنهای I و II استرپتوکک، آنتی‌بادی ضد IgG انسان، آنتی‌بادی ضد CEA، آنتی‌بادی ضد ایدوتیپ لنفوم سلولهای B، آنتی‌بادی ضد اسپرم، آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژنهای سطحی در سلولهای سرطانی کولون و آنتی‌بادی ضد ویروس هرپس تیپ HSVII(II) اشاره کرد.** ولی تاکنون تنها ۴ آنتی‌بادی با کاربری بالقوه در درمان بیماریهای انسان در گیاه تولید شده است و فقط یکی از آنتی‌بادیها در انسان مورد آزمایش قرار گرفته است. این آنتی‌بادی، یک آنتی‌بادی کایمریک IgG/A علیه آنتی‌ژن سطحی استرپتوکک موتان (عامل اصلی پوسیدگی دندان) است. این آنتی‌بادی در گیاه تنباکو تولید شده است و از نظر توانایی مهار استقرار باکتری مذکور در دهان و اطراف دندان‌ها، مشابه IgG تولید شده در سلولهای هیبریدوم عمل می‌کند. آنتی‌بادی دوم یک آنتی‌بادی انسانی شده (Humanized) ضد HSV است. این آنتی‌بادی در سویا تولید شده و در مدل موشی از انتقال ویروس HSV-II واژن جلوگیری می‌کند. سومین آنتی‌بادی علیه CEA است. آنتی‌بادی اخیر در برنج و گندم تولید شده است. این آنتی‌بادی در تشخیص سرطانها از طریق عکسبرداری اختصاصی و نیز در درمان سرطانهای مرتبط با این آنتی‌ژن مورد استفاده قرار می‌گیرد. و بالاخره چهارمین آنتی‌بادی در واقع یک واکسن ضد تومور است که در درمان لنفوم بورکیت استفاده می‌شود.

علاوه بر آنتی‌بادیهای منوکلونال، طیف وسیعی از واکسن‌ها و پروتئین‌های دیگر در گیاهان تولید شده است که از آن جمله می‌توان به واکسن‌های ضد هپاتیت B، هاری، ویروس Norwalk، توکسین LT-B، باکتری E.coli، توکسین وبا، هپاتیت C، CMV انسان، سرخک، پنومونی گاوی و پروتئین‌هایی نظیر کلاژن، هیرودین، لاکتوفرین، لیپاز، هورمون رشد و اریتروپویتین اشاره کرد. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که واکسن‌های تولید شده در گیاهان ایمونوژن هستند و قادر به القاء سیستم ایمنی می‌باشند. نشان داده شده است که آنتی‌ژنهای تولید شده در گیاه به هنگام تجویز وریدی و یا خوراکی قادر به القاء ایمنی مخاطی و سیستمیک می‌باشند و در غالب موارد سبب حفاظت در برابر عوامل بیماریزای مربوطه می‌شوند. تشکیل کپسول در اطراف آنتی‌ژنهای تولید شده در گیاه، آنها را در برابر هضم آنزیمی

معده محافظت می‌کند و سبب دستیابی آنها به بافت هدف می‌گردد. پروتئین‌های نوترکیب را می‌توان بنابر پروموتور مورد استفاده در تمام پیکرهٔ گیاه، برگ‌ها، ریشه، دانه، و یا ارگانلهای خاصی از گیاه نظیر کلروپلاست تولید نمود. پروتئین‌هایی که در دانهٔ گیاه تولید می‌شوند، پایداری فوق العاده زیادی دارند. به عنوان مثال آنزیم‌ها و آنتی‌بادیهای تولید شده در دانهٔ گیاه را می‌توان بدون کاهش قدرت کاتالیتیکی و یا تمایل اتصال به آنتی‌ژن بیش از ۳ سال در یخچال نگهداری کرد. اخیراً محققین تولید قطعه تک زنجیره‌ای FV را در دانهٔ نخود فرنگی گزارش کرده‌اند. همچنین گزارش‌هایی در زمینه تولید قطعهٔ فوق در دانه گیاه تنباکو وجود دارد.

تولید پروتئین‌های نوترکیب از جمله آنتی‌بادی در گیاهان خوراکی نظیر سیب‌زمینی، سویا و موز امکان استفاده خوراکی از این گیاهان را با کاربری درمانی فراهم می‌آورد. از آنجا که امکان بیان اکثر ژنها در سیستم‌های مختلف بیان وجود دارد، انتخاب نوع سیستم بیان به مزایا و معایب بالقوه هر سیستم بستگی تام دارد. یک سیستم ایده‌آل بیان، سیستمی است که محصول تولید شده در آن از نظر بیولوژیک کاملاً فعال باشد، پروتئین‌های تولید شده کاملاً بدون خطر (safe) باشند، مقدار تولید بالا و هزینهٔ تولید کم باشد. مزیت اصلی استفاده از سلولهای حیوانی حاوی DNA نوترکیب در تولید پروتئین این است که محصول پروتئینی تولید شده مشابه پروتئین اصلی است ولی کشت این سلولها بسیار گران بوده و امکان تولید در مقیاس بالا وجود ندارد. استفاده از میکروارگانیزم‌هایی نظیر باکتریها امکان تولید محصول پروتئینی در مقیاس بالا را فراهم می‌آورد ولی عیب اصلی این سیستم بیان اینست که پروتئین‌های تولید شده از نظر گلیکوزیلاسیون و خمش (folding) با پروتئین اصلی تفاوت دارند. تولید پروتئین‌های نوترکیب در گیاهان دارای مزایای بالقوه متعددی است که از آن جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱- سیستم‌های بیان گیاهی نسبت به سیستم‌های تخمیری و بیورآکتورها، اقتصادی‌ترند. به عنوان مثال هزینهٔ تولید IgG در گیاه آلفا آلفا که در زمینی به مساحت $۲۵۰m^۲$ کشت داده شود، حدود ۶۰۰-۵۰۰ دلار به ازای هر گرم است که این میزان در مقایسه با قیمت تمام شده تولید همین آنتی‌بادی در سیستم هیبریدوما (۵۰۰۰ دلار) بسیار ارزانتر است.

۲- امکان تولید انبوه وجود دارد. تخمین زده می‌شود که میزان تولید پروتئین‌ها در گیاهانی نظیر تنباکو، سویا و آلفا آلفا بیش از ۱۰ کیلوگرم به ازای هر جریب باشد.

۳- امکان استفاده خوراکی از گیاهان وجود دارد و لذا می‌توان از فرآیندهای پیچیده تخلیص صرف نظر نمود.

۴- امکان بیان پروتئین مورد نظر در ارگان، ارگانل یا قسمت خاصی از گیاه نظیر برگ، ریشه و یا دانه وجود دارد.

۵- خطر آلودگی محصول پروتئینی با پاتوژنهایی نظیر HIV، HSV و یا سموم بالقوه خطرناک وجود ندارد.

۶- برخلاف باکتریها، گیاهان می‌توانند پروتئین‌های مولتی‌مر (نظیر آنتی‌بادیها) را در شکل صحیح خود تولید کنند.

الگوی گلیکوزیلاسیون پروتئین‌های تولید شده در گیاهان موردی است که توجه محققین امر را به خود معطوف داشته است. بررسی الگوی گلیکوزیلاسیون آنتی‌بادیهای تولید شده در گیاهان نشان می‌دهد که هر دو مکان N- گلیکوزیلاسیون زنجیرهٔ سنگین گلیکوزیله می‌شوند ولی تعداد مولکول‌های قند مانوز بیش از میزان مشابه در آنتی‌بادیهای تولید شده در سیستم‌های بیان حیوانی است. همچنین نحوهٔ گلیکوزیلاسیون تا حدودی متفاوت است. این امر احتمال ایجاد واکنش ایمنی و حساسیت، بویژه در افراد مستعد را بوجود می‌آورد. ولی مطالعات انجام شده در مدل موشی نشان می‌دهد که تجویز این آنتی‌بادیها در موش سبب بروز واکنش ایمونولوژیک نمی‌شود. با این وجود تلاش‌های زیادی جهت تغییر الگوی گلیکوزیلاسیون آنتی‌بادیهای تولید شده در گیاه و همانند سازی این فرآیند با نحوه گلیکوزیلاسیون آنتی‌بادیها در انسان صورت گرفته است که از آن جمله می‌توان به تولید آنتی‌بادی در شبکه رتیکولوم اندوپلاسمیک و انتقال ژن گالاکتوزیل ترانسفراز β1-4 انسان به گیاهان ترانس‌ژن اشاره کرد.

از نظر میزان مصرف در آزمایشهای بالینی، آنتی‌بادیها بزرگترین گروه مولکولهای پروتئینی را تشکیل می‌دهند. مطابق با برآورد جدید، در حال حاضر بیش از ۲۵۰ شرکت بر روی تولید بیش از ۷۰۰ نوع آنتی‌بادی درمانی کار می‌کنند و از بین آنها ۲۲۰ نوع آنتی‌بادی در آزمایشهای بالینی مورد استفاده قرار گرفته است. با توجه به نیاز روزافزون به چنین آنتی‌بادیهایی، سیستمی که بتواند این آنتی‌بادیها را با بازده بالاتر و هزینه کمتر تولید نماید، ارجحیت خواهد داشت. از بین سیستم‌های مختلف تولید آنتی‌بادیها و پروتئین‌ها، سیستم بیان گیاهی بیش از سایر سیستم‌های تولید، امیدوار کننده به نظر می‌رسد.

تکنیک تولید آنتی بادی منوکلونال

دکتر علی اکبر صبور یراقی

بخش دوم: ایمونیزاسیون (Immunization)

در شماره گذشته به کلیات روش‌های تولید آنتی‌بادی منوکلونال اشاره شد. در این شماره اولین مرحله در تولید آنتی‌بادی منوکلونال یعنی ایمن کردن حیوانات را مطالعه خواهید کرد. بدلایل متعدد برای انجام فیوژن اغلب از موش‌های سفید کوچک استفاده می‌شود. شباهت فیزیولوژیکی موش با انسان، کوتاه بودن دوره تولید مثل و سهولت در نگهداری و تکثیر موشها از مهمترین دلایل آن بشمار می‌آید. از طرفی چون فرآیند ایمونیزاسیون نسبتاً طولانی است برای پیشگیری از بارداری موش‌ها باید آنها را از یک جنس، نر یا ماده انتخاب کرد. بدلیل خشن بودن موش‌های نر، در طی زمان تزریقات آنتی‌ژن این موشها بطور متوالی با یکدیگر درگیر شده و احتمال مرگ و میر یا مجروح شدن آنها بالاست لذا در اغلب تحقیقات از موش‌های ماده برای ایمونیزاسیون استفاده می‌شود. از طرفی چون در هر حالت امکان از بین رفتن موش‌ها وجود دارد و از طرف دیگر احتمال موفقیت عمل فیوژن و رسیدن به آنتی‌بادی مورد نظر صددرصد نیست بهتر است که تزریق آنتی‌ژن بطور همزمان در چند موش انجام گیرد. اغلب آنتی‌ژن‌ها قبل از تزریق بایستی آماده شوند که در اینجا مراحل آماده‌سازی آنها مورد بررسی بیشتر قرار می‌گیرد.

الف) آماده‌سازی آنتی‌ژن آنتی‌ژنها معمولاً یا بصورت مایع و محلول و یا بصورت پودر لیوفلیزه شده هستند. در صورتیکه آنتی‌ژن بصورت پودر باشد بهتر است ابتدا در بافر PBS استریل، سالین استریل یا آب مقطر استریل حل شود که این بستگی به میزان حلالیت آنتی‌ژن نیز دارد. گاهی اوقات حلالیت آنتی‌ژن کم است بخصوص پروتئین‌های بسیار هیدروفوب، که در اینصورت میتوان از کمی دترجانت نیز برای افزایش حلالیت استفاده کرد. معمولاً میزان دترجانت باید کمتر از ۰/۲ درصد باشد. پس از حل شدن آنتی‌ژن بایستی با محلول ویژه‌ای بنام ادجوانت مخلوط گردد. بطور کلی ادجوانت ممکن است حاوی برخی میکروب‌های ضعیف شده نیز باشد که در اینصورت به آن ادجوانت کامل گفته می‌شود و اگر فاقد میکروارگانیسم ضعیف شده باشد، ادجوانت ناقص نام دارد. از ادجوانت کامل معمولاً در تزریقات اول استفاده می‌شود و هدف از بکارگیری آن تحریک بیشتر سیستم ایمنی میزبان برای ایجاد پاسخ قویتر است. در تزریقات دوم و بعد از آن دیگر نیازی به استفاده از ادجوانت کامل نیست و می‌توان از ادجوانت ناقص که فاقد میکروب‌های ضعیف شده است، استفاده کرد.

برای آماده‌کردن آنتی‌ژن ابتدا به کمک یک سرنگ حجم مورد نیاز از محلول آنتی‌ژن را برداشته، سپس با یک سرنگ دیگر از ادجوانت کامل/ناقص با حجم مساوی با حجم آنتی‌ژن برداشته و پس از هواگیری توسط یک رابط سرنگی این دوسرنگ بهم متصل می‌شوند. در مرحله بعد بطور متوالی محتویات هر سرنگ به سرنگ دیگر منتقل می‌شود، این عمل آنقدر انجام می‌شود تا محلول داخل سرنگ‌ها بصورت امولسیون پایدار درآید. بدین ترتیب که اگر یک قطره از امولسیون ایجاد شده را روی یک ظرف آب بریزیم قطره ثابت و بصورت نقطه‌ای باقی بماند در اینصورت آنتی‌ژن آمادهٔ تزریق می‌باشد، در غیر اینصورت بایستی به هم زدن ادامه داد.

بدین ترتیب ادجوانت‌ها بدو طریق به ایمونیزاسیون کمک می‌کنند اول اینکه سیستم ایمنی را تحریک می‌کنند و به آنتی‌ژن پاسخ قویتری داده می‌شود، دوم اینکه پس از مخلوط شدن آنتی‌ژن با ادجوانت شکل امولسیون غلیظ ایجاد می‌شود که قادر است آنتی‌ژن را بتدریج وارد بدن میزبان نماید و طول مدت زمانی که سیستم ایمنی در معرض آنتی‌ژن قرار دارد طولانی‌تر می‌شود.

ب) روش‌های ایمونیزاسیون روش‌های متعددی برای ایمن کردن حیوانات گزارش شده است که در اینجا بطور اجمال مهمترین و شایع‌ترین روش‌های مورد استفاده بحث می‌شود.

۱- میزان آنتی‌ژن تزریقی

توصیه می‌شود که در مایع امولسیون حاوی آنتی‌ژن، غلظت آنتی‌ژن بین ۲۵۰-۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر باشد. اما در مورد ایمونوژن‌های خیلی ضعیف گاهی تا یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز استفاده شده است. در مواردی نیز که آنتی‌ژن خیلی گران قیمت و یا کمیاب باشد بین ۱۰-۲ میکروگرم در میلی‌لیتر نیز تزریق شده است؛ اما لازم به توضیح است که در تزریقات با غلظت‌های خیلی کم بخصوص برای ایمونوژن‌های متوسط و ضعیف درصد موفقیت فیوژن بشدت کاهش می‌یابد. علاوه بر این میزان آنتی‌ژن تزریقی، به نژاد، سن و وزن حیوان نیز بستگی دارد. لذا پیدا کردن مقدار بهینه تزریق به حیوانات، می‌تواند تا حدود زیادی با تجربه نیز بدست آید. توصیه می‌شود افرادیکه برای اولین بار از یک آنتی‌ژن خاص استفاده می‌کنند قبل از تزریق آنتی‌ژن، منابع معتبر برای تعیین حدود میزان آنتی‌ژن تزریقی را مطالعه کنند.

ادامه دارد .....

کاربردهای بالینی آنتی بادی‌های منوکلونال

دکتر پونه دوکوهکی

در شماره گذشته در مورد یکی از رایج‌ترین استفاده‌های آنتی‌بادی منوکلونال در تشخیص آزمایشگاهی یعنی استفاده از آن در طراحی ایمونواسی‌ها صحبت شد. در این قسمت و در ادامه بحث به سایر کاربردهای تشخیصی و نیز موارد استفاده درمانی آنتی‌بادیهای منوکلونال به اختصار اشاره می‌شود.

ب- ایمنوسیتوشیمی:

با استفاده از روش ایمنوسیتوشیمی می‌توان محل آنتی ژنهای مختلف در داخل سلولها، سطح سلولها و یا در بافت را بوسیله آنتی‌بادیهای نشان دار شده (چه مستقیماً و چه از طریق یک آنتی بادی ثانویه نشاندار شده) و مطالعه توسط میکروسکوپ تشخیص داد. این روش خصوصاً در کنار مطالعه معمول پاتولوژیک بافت، اطلاعات ارزشمندی از نحوه پراکندگی سلولهای حامل یک آنتی ژن خاص بدست می‌دهد و می‌توان از آن در تمایز انواع مختلف سلولهای توموری، ارگانسیم‌های عفونی و سلولهای التهابی در یک بافت خاص کمک قابل توجهی گرفت. **بطور کلی می‌توان گفت که در این موارد بکارگیری آنتی بادیهای منوکلونال اختصاصیت بهتری در مقایسه با آنتی‌بادیهای پلی‌کلونال دارد ولی در مواردی از جمله از دست رفتن اپی‌توپ مورد نظر در جریان ثابت کردن (fixation) بافت، آنتی‌بادیهای منوکلونال ارزش خود را از دست می‌دهند.** بنابراین بهتر است برای شناسایی برخی از آنتی‌ژنها، خصوصاً در بافت ثابت شده از آنتی بادی پلی کلونال استفاده شود. برای نشاندار کردن آنتی بادیهای پلی‌کلونال در ایمنوسیتوشیمی غالباً از آنزیمها و سوبستراهایی که رنگهای نامحلول ایجاد می‌کنند مانند DAB و آلکالین فسفاتاز و یا از مواد فلئورسانس مانند فلئورسئین یا FITC استفاده می‌شود.

ج- فلوسیتومتری

در این روش از یک یا چند آنتی بادی نشاندار شده با مواد مولد فلئورسانس که قادر به شناسایی سلولهای مورد نظر هستند برای تعقیب این سلولها توسط دستگاه فلوسیتومتر استفاده می‌شود. این دستگاه بر طبق داشتن و یا نداشتن فلئورسانس مخلوطی از سلولها را از یکدیگر جدا می‌کند. این روش خصوصاً در سالهای جدید استفاده‌های تشخیصی بسیار یافته است. با استفاده از فلوسیتومتری می‌توان زیر گروههای سلولی را در خون، مغز استخوان و یا مایعات دیگر بدن برحسب آنتی‌ژن مورد نظر شناسایی کرد و بدین ترتیب موارد افزایش و یا کاهش هر زیر گروه را به دقت ارزیابی نمود. حتی می‌توان نوع سایتوکاین‌های ترشحی یک سلول را نیز مشخص نمود. بدیهی است که در این مورد امکان استفاده از آنتی بادی پلی‌کلونال وجود ندارد و تنها آنتی بادیهای مورد استفاده از نوع منوکلونال هستند.

د- تشخیص in-vivo:

در حال حاضر آنتی بادیهای منوکلونال متعددی برای ردیابی موارد بیماری مانند: انواع تومورها (سرطان ریه، پروستات، کلون، تخمدان)، بیماری قلبی، التهابات و عفونت در بدن انسان وجود دارد.

در اینگونه موارد از آنتی بادی ضد آنتی ژن اختصاصی بافت بیمار که معمولاً تغییر یافته آنتی ژن طبیعی و یا نوعی از آن است که در حالت طبیعی در سطح سلول بیان نمی‌شود (میوزین)، استفاده می‌شود بدین ترتیب که این آنتی‌بادی را با یک رادیوایزوتوپ نشاندار می‌کنند و پس از تزریق این آنتی بادی نشاندار شده محل قرارگیری آنرا در بدن ردیابی می‌کنند. از این روش برای تعیین محل توده‌های سرطانی قبل از عمل جراحی و یا برای تعیین محل و شدت تخریب بافت میوکاردپس از انفارکتوس و یا تعیین محل و شدت آمبولی ریه و یا ترومبوزهای وریدی استفاده می‌شود. مشخص است که در این مورد هم به غیر از آنتی بادیهای منوکلونال انتخاب دیگری قابل استفاده نیست.

۲- کاربردهای درمانی

ایدهٔ درمان اختصاصی بیماری توسط آنتی بادیها به اوائل قرن بیستم وقتی که پل ارلیخ (Paul Erlich) از آنتی سرم پلی‌کلونال برای القاء ایمنی غیر فعال استفاده کرد، بر می‌گردد. ولی به علت اینکه اکثر آنتی بادیهای تولید شده، چه پلی‌کلونال و چه منوکلونال، با منشاء حیوانی بوده‌اند و سبب برانگیختن پاسخ ایمنی در انسان می‌شده‌اند، استفاده از درمانهای مبتنی بر آنتی بادی منوکلونال، در انسان محدود بوده است؛ ولی عرضه آنتی بادیهای نوترکیب کایمریک و بتازگی، آنتی بادیهای با منشاء انسانی سبب شده است که موارد استفاده آنتی بادیهای منوکلونال در درمان بیماریها گسترش یابد.

ادامه دارد.....

معرفی شرکتهای تجاری

علی احمد بیات

DAKO یکی از شرکت‌های تولید فرآورده‌های تشخیص پزشکی در سطح جهان می‌باشد که دارای شبکه گستردهٔ توزیع در تمام نقاط جهان می‌باشد. DAKO که شعبه اصلی آن در کپنهاک دانمارک است توسط Niels M.G.Harboe در سال ۱۹۶۶ با هدف عرضه تولیدات جدید و با کیفیت مناسب به محققین تأسیس شد که این هدف جزء اساس و وظایف شرکت در ۳۰ سال اخیر بوده است. در این مدت، انتقال نتایج تحقیقات پیشرفته ایمنولوژیک برای تولید ابزار تشخیص عملی، رمز موفقیت این شرکت محسوب می‌شود. به جرأت می‌توان گفت که این شرکت اصلی‌ترین تولید کننده آنتی‌بادیهای نشاندار است که مورد مصرف در انواع ایمنواسی‌ها، ایمنوسیتوشیمی و فلوسیتومتری قرار می‌گیرند.

DAKO در ابتدای دهه ۱۹۸۰ اولین سیستم آماده Immunostaining را راه اندازی کرد، که نتیجهٔ آن کیت پراکسیداز آنتی پراکسیداز (PAP) برای ایمنوهیستوشیمی می‌باشد. به تازگی سیستم رنگ آمیزی دیگری (Catalyzed Signal Amplification) معرفی کرده است و کیفیت رنگ آمیزی را بهبود بخشیده است. در طی این مدت محققین DAKO تلاش کرده‌اند تا ارتباط فعال خود را با دانشمندان پیشرو در زمینه ایمنوهیستوشیمی برقرار نمایند تا سفارشات مشتریهای خود را با بالاترین نوآوری و کیفیت عرضه نمایند.

DAKO تولید آنتی بادیهای منوکلونال و پلی‌کلونال خود را تا بیش از ۲۰۰۰ مورد رسانده است که از آنها در انواع کیت‌های ایمونوسیتوشیمی و تشخیصی این شرکت استفاده می‌شود.

– جدیدترین آنتی بادیهای منوکلونال تولید شده توسط این شرکت عبارتند از:

1. Anti Human CD1a MAb
2. Anti Human Inhibin MAb
3. Anti Rat Ki - 67 MAb
4. Anti Human E-cadherin MAb
5. Anti Human c-myc MAb
6. Anti Human MGMT MAb
7. Anti Human Calretinin MAb
8. Anti Human P63 Protein MAb

http://www.DAKO.com

فرآورده‌های جدید پژوهشکده ابن‌سینا

رویا قدس

نام فرآورده: Sheep Anti-Mouse Ig (Sh-x Mouse Ig)

شماره فرآورده: SPH 103

مشخصات فرآورده:

حیوان میزبان: گوسفند

ایمونوژن: ایمونوگلوبولین موش که از طریق کروماتوگرافی جذبی (Affinity chromatography) بدست آمده است.

تخلیص آنتی‌بادی: آنتی‌بادی Sheep Anti-Mouse Ig از طریق کروماتوگرافی جذبی با استفاده از ایمونوگلوبولین موش متصل به Sepharose-4B تخلیص گردید.

غلظت پروتئین: ۰/۵ mg/ml

حلال: PBS (۰/۱۵ M و PH ۷/۲) واجد تایمروسال ۰/۰۱٪

واکنش متقاطع با سرم حیوانات: با سرم انسان ۶٪ و با سرم خوکچه هندی، مرغ، خرگوش، گربه، سگ، اسب کمتر از ۲/۵٪ و با سرم رت ۲۵٪ واکنش متقاطع دارد.

موارد استفاده:

۱- الایزا:

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

۲- ایمونودیفوزیون Immunodiffusion

۳- هماگلوتیناسیون Hemagglutination

نحوه نگهداری: آنتی‌بادی را در ویالهای کوچک در ۲۰ ^{o}C- نگهداری کرده و از منجمد کردن و ذوب کردن آن به طور متوالی خودداری کنید.

کیفیت این فرآورده به تأیید آزمایشگاه رفرانس وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی رسیده است.