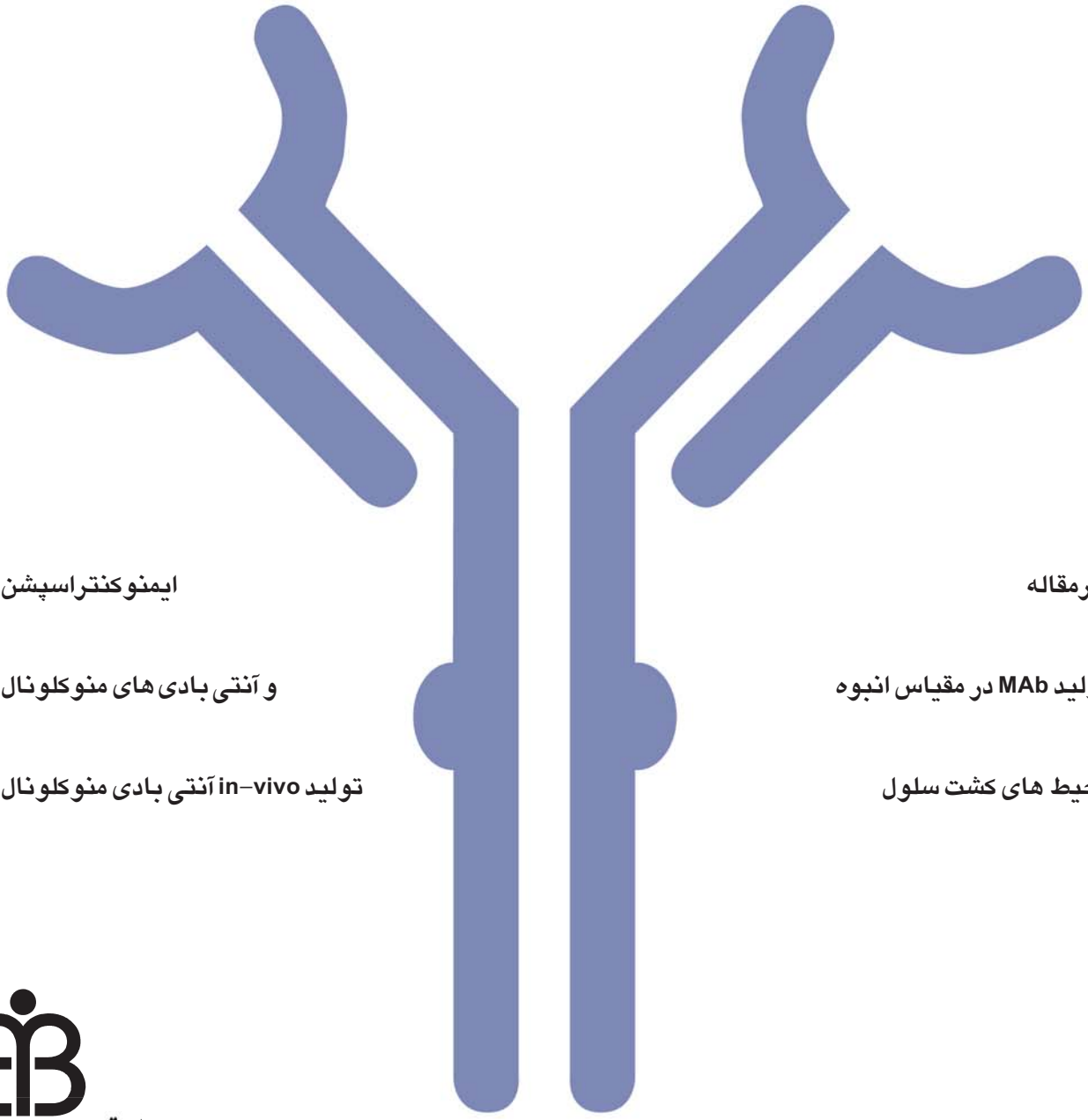
ماهنامه علمی تخصصی

آنتی بادی منوکلونال

سال اول, شماره ۶

شهریور ماه ۱۳۸۲



سرمقاله

تولید MAb در مقیاس انبوه

محیط های کشت سلول

ایمنوکنتراسپشن

و آنتی بادی های منوکلونال

تولید in-vivo آنتی بادی منوکلونال

مرکز تحقیقات آنتی بادی منوکلونال
پژوهشکدهٔ ابن سینا
جهاد دانشگاهی

تک شماره ۱۰۰ تومان

بسمه تعالی

ماهنامه تخصصی آنتی بادی منوکلونال
سال اول، شماره ششم، شهریور ماه ۱۳۸۲

صاحب امتیاز: پژوهشکده ابن سینا
مدیر مسئول: دکتر محمود جدی تهرانی
سردبیر: دکتر پونه دوکوهکی
شورای علمی نشریه (به ترتیب حروف الفبا):
دکتر محمد باباشمسی، 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 و رویا قدس
مدیر داخلی: شمیسه اسکندری
همکاران اجرایی: پروانه احمدی، افسانه زمانی، مژده مظهری، ناصر رحیمی، ابوالفضل علیزاده
طراحی روی جلد و صفحه آرایی: مونا سراجی
چاپ و تکثیر: حدیث (۸۹۶۴۳۱۵)
گستره توزیع: سراسر کشور
ترتیب انتشار: ماهنامه
روش: خبری، آموزشی
این نشریه برای شنیدن هر گونه اظهار نظر، پیشنهاد و انتقاد سازنده اعلام آمادگی می نماید. علاقمندان می توانند نقطه نظرات خود را به نشانی زیر ارسال نمایند.
تهران، بزرگراه شهید چمران، دانشگاه شهید بهشتی، انتهای بلوار
تهران: صندوق پستی، ۱۷۷– ۱۹۸۳۵
تلفن: ۲۴۰۲۰۱۱فاکس: ۲۴۰۳۶۴۱

Email: jmab@avesina.ir
Website: http://www.avesina.ir

سرمقاله

دکتر محمود جدی تهرانی

ششمین شماره ماهنامه آنتی‌بادی منوکلونال حاوی مطالب متنوعی در زمینه های، تولید آنتی‌بادیهای منوکلونال در مقیاس انبوه، محیط‌های کشت سلول، ایمنوکنتراسپشن و آنتی‌بادیهای منوکلونال و خبری در مورد تبدیل موشها به کارخانه آنتی‌بادی‌سازی با تلاش همکاران گرامی، تقدیم خوانندگان عزیز می‌گردد.

همانگونه که از این مطالب استنباط می‌گردد تولید آنتی‌بادیهای منوکلونال و فرآورده‌های مربوط به آنها از محصولات عمده و بسیار مفید بیوتکنولوژی می‌باشد. متأسفانه سهم کشور ما از اینگونه تولیدات در مقایسه با کشورهای پیشرفته دنیا بسیار ناچیز می‌باشد. سؤال این است که آیا اهمیت اینگونه تولیدات بر مسئولین امر واضح گردیده است؟

اگر نگاهی اجمالی به مراکز تحقیقاتی دولتی، دانشگاهها و حتی مراکز تحقیقاتی و تولیدی خصوصی کشور بیندازیم، خواهیم دید که پتانسیل بسیار بالایی در زمینه ورود به تولید محصولات بیوتکنولوژی و علی‌الخصوص آنتی‌بادیهای منوکلونال و پلی‌کلونال و محصولات وابسته به آنها در کشور وجود دارد. پس چرا با وجود این همه توان بالقوه، هنوز ایران در زمره تولیدکنندگان این محصولات، سهمی را که لایق آن است بدست نیاورده است. شاید یک علت آن فعالیتهای جسته گریخته و جداگانه محققین در کشور ما باشد. شاید حمایتهای مالی نیز از سوی مسئولین این امر، بقدر کافی صورت نمی‌گیرد و حتماً دلایل دیگری را نیز می‌توان متصور بود. درصورتی که حمایت از طرحهای مشترک بین گروههای مختلف تحقیقاتی و تولیدی و با بودجه مکفی از سوی مقامات ذیربط صورت گیرد، شاید بتوان در آینده‌ای نزدیک این نیروی عظیم بالقوه را بحرکت درآورده و توان تولیدی قابل توجهی را بالفعل ایجاد نمود، انشاءالله.

و من ا... التوفیق

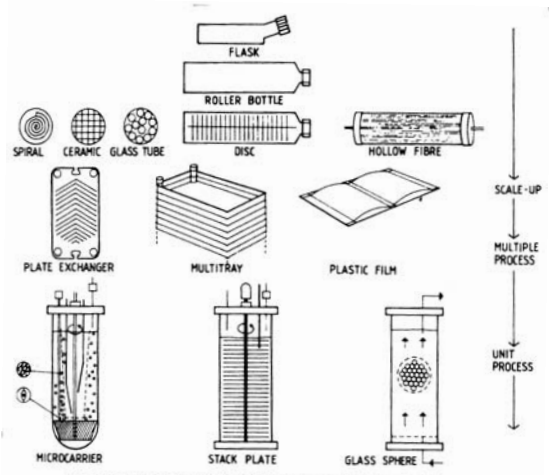
تکثیر هیبریدوما در مقیاس انبوه
(قسمت دوم)

دکتر محمد باباشمسی

در ادامه مطالب قسمت قبل در این شماره اشاره‌ای به روشهای مختلف کشت سلول برای تولید انبوه آنتی بادی می‌شود یک روش کاملاً متفاوت جهت رشد سلولهای نیازمند به سطح اتکا استفاده از تکنولوژی فیبر میان تهی و ماتریکس های سرامیکی است. در فیبرهای میان تهی سلولها در سطح خارجی این فیبرها که در محیط کشت غوطه ورند و هوا و CO_2 از طریق مجاری و روزنه های آن عبور می کند، رشد داده می شوند. درعمل، از این فیبرها به صورت صفحات مسطحی به عمق حدود ۳ تا ۶ لایه استفاده می شود. چنین ترتیبی تضمین کننده مسیر کوتاه انتشار مواد بعد از وارد نمودن محیط کشت می باشد. بنابراین بندرت شاهد اختلاف شیب دار از زیاد به کم مواد غذائی در محیط کشت خواهیم بود. هنگامی که سلولها بصورت لایه و پوششی روی فیبر قرار گیرند، می توان سلولها را از یک محیط کشت درحال رشد وارد محیط کشت در وضعیت ابقا نمود. محیط کشت اخیر فاقد سرم بوده و بنابراین بمراتب ارزانتر است، اما برای مدت طولانی اجازه ترشح مولکولهای بزرگ را می دهد. اصول کار در ماتریکس های سرامیکی شبیه سیستم فیبرهای میان تهی است و تنها تفاوت این است که سلولها از جریان محیط کشت توسط غشاء جدا نمی شوند، بلکه در یک ماتریکس بسیار مشبک جایگیر شده و مواد غذائی با جریان محیط کشت از طریق کانالهای کوچک مربع شکل موجود در ماتریکس تامین می گردد. برخی از خصوصیات این دو سیستم بقرار زیر است:

۱- غلظت سلولی بیش از 10^8/ml در هر دو سیستم ۲- غلظت فراوان محصول در فیبرهای میان تهی: که برای IgM، ۴۰۰mg/L و برای IgG، ۱۱.. mg/L گزارش شده است و در مورد ماتریکس سرامیک میزان تولید ۳۰۰mg/L بوده است ۳- وجود مواد غذائی، اکسیژن وفضولات در محفظه کشت ۴- گسترش زیاد مواد غذائی و اکسیژن در فیبرهای میان تهی ۵- جمع آوری محصول بدون سلول و یا با تعداد کمی از سلول ها ۶- امکان برآورد غلظت سلولی در محفظه کشت تنها از طریق میزان مصرف اکسیژن. ۷- عدم وجود تنش های هیدرودینامیکی در فیبرهای میان تهی. ۸- احتمال مسدود شدن غشاء فیبرهای میان تهی. ۹- محدود بودن میزان افزایش تولید، بدلیل اینکه طول لوله از حد مشخص بیشتر نمی تواند باشد و تنها قطر فیبر و یا تعداد آن ها می تواند افزایش یابد.

ولی با تمام این خصوصیات، انتقال سلول های رشد یافته در سیستم های کوچک به چنین سیستم های بزرگتری مشکل می باشد.



The scaling-up of culture systems for anchorage-dependent cells.

انواع کشت سلولی تعلیقی:

چهار طریقه کشت انبوه سلول هیبریدوما جهت تولید آنتی بادی منوکلونال عبارتند از:

Batch, Fed-batch, Chemostat, BatchPerfusion

Fed-batch و Batch از عمومی ترین روشها می باشند. Chemostat و Perfusion طرقی از کشت پیوسته هستند که آنتی بادی منوکلونال را بطور مداوم تولید می کنند.

در سیستم های غیرهموژن، سلولها در محفظه کشت باقی مانده و مایع رویی آن بطور مقطعی و یا پیوسته برداشت می گردد در نتیجه غلظت سلولی با جمع آوری محصول تاثیر نمی کند. برخلاف آن در سیستم های هموژن سلول ها بهمراه محصول (آنتی بادی) جمع آوری می شوند.

ذیلاً خصوصیات سیستم های هموژن توضیح داده می شود.

کشتBatch و Fed-batch: غلظت اولیه سلول(Inoculum) را به میزان مورد نظر کشت داده و محصول جمع آوری می گردد. زمان یک کشتbatch بستگی به غلظت سلولی کشت شده، رده سلولی و خصوصیاتی چون میزان رشد و کینتیک تولید آنتی بادی توسط رده سلولی دارد. پس از هر دور کشت، فرمنتور می باید تمیز شده و اتوکلاو گردد تا برای کشت بعدی آماده شود. در کشت batch-Fed ، سلولها دائماً و یا گاهاً تغذیه می گردند و بخشی از کشت پس از مدتی معین تخلیه می گردد.

نکات قابل توجه در این کشت ها عبارتند از:

۱- توده سلولی در مقایسه با روشPerfusion و یا روش های غیرهموژن اندک می باشد.(نهایتاً کمتر از($5x10^6$ cell/ml). ۲- غلظت محصول معمولاً کمتر از ۱۰۰mg/L است، اما تا ۲۰۰ mg/L در روش batch و ۵۰۰mg/L در روش Fed-batch قابل افزایش می باشد. ۳-کنترل پروسه کشت آسان است. ۴-میزان سوبسترا و زوائد متغیر است. ۵-نسبت زمانی تولید محصول به زمان تکثیر سلول ناهمگون است.

کشت Chemostat: همانند روشBatch ، غلظت اولیه سلولی را به میزان مورد نظر کشت داده، سپس محیط کشت را بطور پیوسته و میزانی ثابت به درون فرمنتور پمپ نموده و سوسپانسیون حاوی آنتی بادی به اندازه محیط کشت وارد شده از فرمنتور خارج می گردد. ضریب رقت می تواند از صفر تا حداکثر میزان رشد تغییر کند. رقت زیاد می تواند سلولها را شسته و از فرمنتور تخلیه نماید. افزایش توده سلولی وابسته به افزایش میزان یک یا چند سوبسترا (بعنوان مثال گلوکز یا نیتروژن) می باشد و همچنین با افزایش مواد زاید حاصله (مثلاً آمونیاک)، تکثیر توقف یافته و به یک مرحله سکون می رسد. تولید آنتی بادی می تواند هفته ها و یا ماهها بصورت یکنواخت بدین روش ادامه یابد.

نکات قابل توجه در این نوع کشت عبارتند از:

۱- حداکثر توده سلولی بمیزان غلظت حاصله در کشت batch می باشد (۱-۵x۱۰^۶cell /ml). ۲- غلظت محصول تا ۳۰۰mg /ml می باشد. ۳- شرایط کشت بصورت یکنواخت است. ۴- تولید آنتی بادی در حد مطلوب میسر است لیکن برای تولید biomass مناسب نیست. ۵- رساندن پارامترها به حد مطلوب تحت شرایط یکنواخت و با دقت بالایی امکان پذیر است. ۶- بازدهی بیشتر محصول در یک حجم رآکتور و واحد زمان امکان پذیر است. ۷- میزان جریان(Flow rate) محیط کشت و مایع در فرمنتور باید تحت کنترل دقیق باشد.

کشت Perfusion: همانند کشت Chemostat است، بجز اینکه سوسپانسیون سلولی خارج نمی گردد. سلولها دائماً توسط فیلتر و یا رسوب دهی جدا شده و مجدداً وارد فرمنتور می گردند. پس از مدتی تعداد سلول ها افزایش یافته و بوسیله افزایش میزان محیط کشت ورودی به فرمنتور تغذیه می گردند. جمع آوری مداوم مایع رویی حاوی آنتی بادی توسط یک سیستم فیلتر کننده بتدریج افزایش می یابد. دو سیستم متداول تر فیلتراسیون عبارتند از شبکه ها (قفس) فیلتری که در داخل فرمنتور و یا در یک قسمت خروجی فرمنتور تعبیه شوند و فیلترهای جریان محلول بصورت مماسی (تانژانتی).

نکات قابل توجه در این نوع کشت عبارتند از:

۱-غلظت بالای سلولی (بیشتر ازml /۱۰^۷). ۲- غلظت محصول تا میزان ۱۰۰۰ mg /l. ۳-بازدهی زیاد محصول در یک حجم رآکتور و واحد زمان. ۴-استفاده بهینه از محیط کشت. ۵-اشغال حجم کمتری از فرمنتور برای تولید میزان زیادی از آنتی بادی منوکلونال. ۶-استفاده از ابزار پیشرفته ای جهت کنترل پروسه در این نوع کشت. ۷- محدود شدن زمان کشت به دلیل مسدود شدن فیلترهای جدا کننده سلول.

پایان

محیط های کشت سلول
(قسمت دوم)

دکتر امیرحسن زرنانی

در ادامه مطلب شماره قبل به ذکر برخی دیگر از مواد ضروری در محیط های کشت سلول می پردازیم.

پروتئین ها و پپتیدها:

وجود این مواد بویژه در محیط های کشت بدون سرم حائز اهمیت فراوان می باشد. رایج ترین پروتئین ها و پپتیدهای مورد استفاده در محیط کشت شامل آلبومین، ترانسفرین، فیبرونکتین و فتوئین(Fetuin) است. برخی از پروتئین ها و بویژه، فیبرونکتین برای اتصال سلولهای چسبنده به کف پلیت حائز اهمیت فراوان می باشد.

اسیدهای چرب و چربی ها:

همانند پروتئین ها و پپتیدها، اسیدهای چرب و چربی ها یکی از اجزای مهم محیط های کشت بدون سرم می باشند ولی در محیط های حاوی سرم، منبع اصلی اسیدهای چرب و چربی در محیط کشت، سرم می باشد. برخی از این چربی ها نظیر کلسترول برای رشد و تکثیر رده های سلولی خاصی ضروری است.

عناصر کمیاب:

این عناصر شامل روی، مس، سلنیم است. سلنیم یک عامل سم زدا است و به برداشت و حذف رادیکالهای آزاد اکسیژن کمک می کند. اگرچه مواد و عناصر تشکیل دهنده تمام محیطهای کشت موجود، مشخص و معلوم است ولی ساخت این محیط ها در آزمایشگاه علاوه بر وقت گیر بودن، احتمال آلودگی میکروبی را نیز به همراه دارد از طرف دیگر محیط های کشت آماده یا در غالب پودر و یا به صورت محلولهای ۱۰X یا آماده مصرف به صورت تجاری در دسترس می باشد.

توجه به این نکته لازم است، آبی که برای ساخت محیط های کشت از پودرهای تجاری استفاده می شود باید کاملاً خالص و فاقد موادمعدنی آلی و آلودگی میکروبی باشد. محیط های کشت بلافاصله پس از ساخت باید توسط فیلترهای استریل ۰/۲ μm فیلتر و استریل شده و در یخچال نگهداری شوند.

در جدول (۱) عناصر تشکیل دهنده دو نمونه از رایج ترین محیطهای کشت سلول نشان داده شده است

سرم:

سرم یک ترکیب پیچیده و بسیار مغذی از آلبومین، فاکتورهای رشد، و فاکتورهای مهارکننده رشد بوده و یکی از مهم ترین اجزاء محیط های کشت به شمار می رود. از فاکتورهای رشد سرم می توان به: Platelet Derived Growth Factor (PDGF)

Component	DMEM	RRMI 1640
Aminoacids		
L-arginine	4.0E-04	1.1E-03
L-asparagine		1.7E-03
L-aspartic acid		1.5E-04
L-cystine	2.0E-04	2.1E-04
L-glutamic acid		1.4E-04
L-glutamine	4.0E-03	2.1E-03
Glycine	4.0E-04	1.3E-04
L-histisine	2.0E-04	9.7E-05
L-hydroxy-Proline		1.5E-04
L-isoleucine	8.0E-04	3.8E-04
L-leucine	8.0E-04	3.8E-04
L-lysine HCI	8.0E-04	2.2E-04
L-methionine	2.0E-04	1.0E-04
L-phenylalanine	4.0E-04	9.1E-05
L-Proline		1.7E-04
L-Serine	4.0E-04	2.9E-04
L-threonine	8.0E-04	1.7E-04
L-tryptophan	7.8E-05	2.5E-05
L-tyrosine	4.0E-04	1.1E-04
L-valine	8.0E-04	1.7E-04
Vitamins		
p-Aminobenzoic acid		7.3E-06
Biotin		8.2E-07
Choline chloride	2.9E-05	2.1E-05
Folic acid	9.1E-06	2.3E-06
Myo-inositol	4.0E-05	1.9E-04
Nicotinamide	3.3E-05	8.2E-06
D-Ca Panthotemate	1.7E-05	1.1E-06
Pyridoxal HCI	2.0E-05	
Pyridoxine HCI		4.9E-06
Riboflavin	1.1E-06	5.3E-07
Thiamin	1.2E-05	3.0E-06
Vit B12		3.4E-09
Antioxidants		
Glutathione		3.0E-06
Inorganic salts		
$CaCl_2$	1.8E-03	
KCL	5.3E-03	5.3E-03
$MgSO_4$	8.1E-04	4.0E-04
NaCl	1.1E-01	1.0E-01
$NaHCO_3$	4.4E-02	2.6E-02
NaH_2PO_4	9.1E-04	
$Na_2h_2po_4$		5.6E-03
Trace elements		
$Fe(NO_3)_3.9H_2O$		2.5E-07
Energy metabolism		
D-glucose	2.5E-02	1.1E-02
Sodium Pyruvate	1.0E-03	
Linoleic acid	3.0E-07	
Other		
Phenol red	4.0E-05	1.3E-05
CO_2Used	10%	5%

All concentrations are molar,and computer- style notation is used (e.g., 3.0E-2=3.0×10^{-2}=30mM)

جدول(۱)

Fibroblast Growth Factor(FGF), Insulin– Like growth factor(IGF), Vascular Endothelial Growth Factor(VEGF), اشاره کرد. رایج ترین سرمی که در محیط‌های کشت استفاده می‌گردد، سرم جنین گاوی(Fetal Calf Serum) است. سایر انواع سرمها شامل سرم گوساله تازه تولد یافته(Newborn Calf serum) و سرم اسب می‌باشد.

کیفیت، نوع و غلظت سرم همه می‌توانند رشد سلولها را متأثر کنند، از این رو غربال کردن batch های مختلف سرم قبل از خریداری، مهم است و باید سرم‌ها را از نظر توانایی‌شان در حمایت از رشد سلولهای مورد بررسی، ارزیابی کرد. علاوه بر این، تست های دیگر نظیر بازدهی کلونینگ و توانایی حفظ خصوصیات سلول از جمله آزمایش هایی هستند که می‌توان از آنها در انتخاب سرم مناسب استفاده نمود.

سرم همچنین می‌تواند قدرت بافری محیط‌های کشت را افزایش دهد. این امر بویژه در مورد سلولهای با رشد کم و یا هنگامی که دانسیته اولیه سلول کم است (مانند آزمایش کلونینگ)، حائز اهمیت فراوان می‌باشد. یکی دیگر از خصوصیات منحصربه فرد سرم ممانعت از آسیب مکانیکی به سلولها به هنگام تکان ظرف کشت سلول و یا به هنگام استفاده ازCell Scraper است. یکی دیگر از مزایای سرم این است که علیرغم نیازمندیهای متفاوت سلولهای مختلف می‌توان آن را در کشت انواع مختلفی از سلولها به کار برد. سرم همچنین دارای فاکتور اتصال و فعالیت ضدتریپسین می‌باشد که به نوبه خود به اتصال سلولها به پلیت کمک می‌کند. سرم همچنین می‌تواند به سموم متصل شده و آنها را خنثی نماید. ولی باید توجه داشت که این خصوصیات سرم از یکbatch بهbatch دیگر فرق می‌کند.

سرم دارای مواد معدنی، چربی‌ها و هورمونها نیز می‌باشد. با وجود تمام این مزایا، سرم در محیطهای کشت، واجد معایبی نیز می‌باشد. مواد بازدارنده رشد در سرم وجود دارند که شامل بازدارنده‌های طبیعی مانند TGF و بازدارنده‌های غیرطبیعی است. بازدارنده‌های غیرطبیعی عمدتاً به صورت مصنوعی و به هنگام تولید سرم وارد آن می‌شوند که از مهمترین آنها می‌تواند به سموم باکتریایی اشاره کرد.

همچنین احتمال آلودگی سرم با محصولات باکتریایی و یا ویروس‌ها وجود دارد. به طور معمول سازندگان سرم، محصول تولیدی خود را از نظر ویروس اسهال گاوی(Bovine Viral Diarrhea Virus) و میکوپلاسما مورد آزمون قرار می‌دهند. غیرفعال کردن سرم با حرارت (۵۶ درجه سانتی‌گراد بمدت نیم‌ساعت) خطر آلودگی را به میزان قابل‌توجهی کاهش می‌دهد چرا که برخی از ویروس‌ها درطی این فرآیند غیرفعال می‌شوند. گاهی اوقات از سرم انسان برای رشد برخی از رده‌های سلولی انسان استفاده می‌شود. در

Constituent	Range of concentration[a]
Proteins and Polypeptides:	40-80 mg/ml
Albumin	20-50 mg/ml
Fetuin[b]	10-20 mg/ml
Fibronectin	1-10 µg/ml
Globulins	1-15 mg/ml
Protease inhibitors: α_1 – antitrypsin, α_2 -Macroglobulin	0.5-2.5 mg/ml
Transferrin	2-4 mg/ml
Growth factors:	
EGF, PDGF, IGF-1 AND 2,FGF, IL-1,IL-6	1-100 ng/ml
Amino acids:	0.01-1.0µM
Lipids	2-10 mg/ml
Cholesterol	10 µM
Fatty acids	0.1-1.0 µM
Linoleic acid	0.01-0.1 µM
Phospholipids	0.7-3.0 mg/ml
Carbohydrates:	1.0-2.0 mg/ml
Glucose	0.6-1.2 mg/ml
Hexosamine[c]	6-1.2 mg/ml
Lactic acid[d]	0.5-2.0 mg/ml
Pyruvic acid	2-10 10 µg/ml
Polyamines:	
Putrescine,spermidine	0.1-1.0 µM
Urea	170-300 µg/ml
Inorganics:	0.14-0.16 M
Calcium	4-7 mM
Chlorides	100 µM
Iron	10-50 µM
Potassium	5-1510 mM
Phosphate	2-5 mM
Selenium	0.01µM
Sodium	135-155 mM
Zinc	0.1-1.0 µ
Hormones:	0.1-200 nM
Hydrocortisone	10-200 nM
Insulin	1-100 ng/ml
Triiodothyronine	20 nM
Thyroxine	100 nM
Vitamins:	10 ng-10 µg/ml
Vitamin A	10-100 ng/ml
Folate	5-20 ng/ml

[a]The range of concentrations is very approximate and is intended to convey only the order of magnitude
[b]In fetal serum only.
[c]Highest in human serum. [d]Highest in fetal serum.

(جدول ۲)

اینگونه موارد غربالگری سرم از نظر ویروس‌هایی نظیرHIV,HEV,HBV لازم است. برخی از متخصصین از سرم اسب بجای سرم گوساله استفاده می‌کنند. مزیت اصلی سرم اسب در این است که ترکیبات آن در سری های مختلف تولید(batch) تفاوت قابل ملاحظه‌ای با یکدیگر ندارد.

ازطرف دیگر استفاده از سرم علاوه بر هزینه نسبتاً بالایی که دارد، بعضاً در انجام مراحل تخلیص پروتئین مورد نظر از کشت سلول را با اختلال مواجه می‌کند. به عنوان مثال در هر میلی‌لیتر سوپ یک محیط کشت حاوی ۱۰٪FCS، بمیزان ۸۴ میلی‌گرم پروتئین وجود دارد و همین امر به هنگام تخلیص پروتئین‌های تولید شده توسط سلولها، مشکل‌ساز بوده و سبب طولانی‌تر شدن مراحل تخلیص خواهد گردید.

پایان

ایمنوکنتراسپشن و آنتی بادی های منوکلونال

شبنم منتظری

ایمنوکنتراسپشن استفاده از پاسخ ایمنی بدن جهت پیشگیری از بارداری است. امروزه استفاده از ایمنوکنتراسپشن یکی از نویدبخش‌ترین روشهای کنترل جمعیت است و در برخی موارد می‌توان با تلقیح تنها یک واکسن اثرات ضدبارداریهای را در گونه‌های مختلف پستانداران القاء نمود. ابداع روشی ضدبارداری با رویکرد ایمنولوژیک که بتواند سبب ایجاد وقفه یا اخلال در پروسه باروری شود پایه اصلی تحقیقات در این زمینه را تشکیل می‌دهد که علاقه بسیاری از محققان در هر دو رشته ایمنولوژی و بهداشت باروری را بخود جلب کرده است.

یکی از روشهای که برای ایمنوکنتراسپشن پیشنهاد شده است واکسنی جهت بی‌اثر کردنHCG به منظور پیشگیری از بارداری می‌باشد. با خنثی شدنHCG ، تخم بارور نمی‌تواند در دیواره رحم جایگزین شود و در نتیجه دفع می‌شود. بدلیل آنکه یک واکسن ایده‌آل باید حتی‌الامکان مستقیماً و تنها برعلیه یک آنتی‌ژن وارد عمل شود، خنثی کردن گنادوتروپین جفتی یا HCG توسط آنتی‌بادیهای بلوک کننده یکی از بهترین استراتژی‌ها در این زمینه می‌باشد.

GnRH نیز عامل دیگری است که عملکرد باروری را در هر دو جنس کنترل می‌کند. در جنس مونث، مهارGnRH سبب مهار تخمک‌گذاری و تولید هورمونهای جنسی استروژن و پروژسترون می‌شود و در جنس مذکر مهار این هورمون سبب توقف تولید اسپرم و وقفه در ترشح هورمون جنسی تستوسترون می‌گردد. آنتی‌بادیهای منوکلونال برعلیه این هورمون سبب مهار تولید هورمونهای جنسی می‌گردند و بدین طریق می‌توانند مانع از باروری گردند.

امروزه مشخص شده است که آنتی‌بادیهای برعلیه لایه زوناپلوسیدا می‌توانند بطور موثری مانع از باروری گردند و تفکر ابتدایی این مسئله نیز بدنبال بررسی پاتولوژی‌های تخمدان با تظاهر اختلال در فولیکولوژنز بوجود آمد چرا که مشاهده گردید واکنشهای خودایمنی موجود در تخمدان موشها سبب ناباروری در آنها گردیده است.

گرچه تیتر بالای آنتی‌بادی بر علیه لایه زوناپلوسیدا سبب ممانعت از اتصال اسپرم و تخمک در محیط آزمایشگاه تا حدود ۶۰٪ شده است اما در برخی گونه های پستانداران قادر به جلوگیری از حاملگی نبوده است. بنابراین این مسئله نیاز به بررسی و تحقیق بیشتری دارد. از طرف دیگر، تزریق پروتئین نوترکیب زوناپلوسیدای انسان به خرگوش سبب ممانعت از باروری گردیده است. این پروتئین سبب تحریک بدن برای تولید آنتی‌بادی می‌گردد و سپس آنتی‌بادی به زوناپلوسیدای تخمک های آزاد شده حمله

کرده و مانع از اتصال اسپرم به تخمک می شود.
بتازگی محققان موفق شده اند نوعی آنتی بادی منوکلونال بلوک کننده بارداری (mAb-5H4) جهت ایمنوکنتراسپشن تولید کنند. این آنتی بادی سبب ممانعت از اتصال اسپرم به زوناپلوسیدای تخمک انسان می گردد. از آنجا که زوناپلوسیدا بیشترین اهمیت بیولوژیکی را در مراحل اولیه باروری و جایگزینی بعهده دارد، مطالعه برروی این قسمت، از جایگاه ویژه ای برخوردار است. گلیکوپروتئین زوناپلوسیدا که اطراف اووسیت پستانداران قرار دارد، چندین آنتی ژن هدف دارد که در تهیه واکسن های ضدبارداری بوسیله تولید آنتی بادیهای منوکلونال مورد استفاده قرار می گیرند. با تفکیک دقیق تر آنتی ژنهای زوناپلوسیدا که نقش عمده ای در باروری انسان دارند، چند نوع آنتی بادی منوکلونال شامل 5H4، 4E12، 4A2، 2G3 و2A1 ساخته شده اند. ۳ نوع از این آنتی بادیها یعنی5H4، 4E12 و 4A2، اثرات بلوک کنندگی واضحی روی باند شدن اسپرم انسان و نفوذ به زوناپلوسیدا دارند و بر اساس نتایج بدست آمده از تحقیقات، آنتی بادی منوکلونال از نوع 5H4 کاندید مناسبی برای تهیه ایمنوکنتراسپشن جدید می باشد.
از آنتی بادیهای منوکلونال ضد اسپرم نیز می توان به عنوان ایمنوکنتراسپشن استفاده کرد. یک نمونه از این نوع آنتی بادیها، آنتی بادی منوکلونال S19 بر ضد آنتی ژن اختصاصی اسپرم بنام آنتی ژن آگلوتیناسیون اسپرم(Sperm Agglutination Antigen– SAGA) یا CD52 است. مشاهده شده است که این آنتی بادی می تواند سبب چسبندگی اسپرم ها به یکدیگر و درنتیجه مرگ آنها شود و نیز از اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا جلوگیری می کند و بدین ترتیب این آنتی بادی و انواع مشابه آن می توانند در آینده نزدیک به عنوان یک واکسن ایمنولوژیک برای جلوگیری از بارداری مورد استفاده قرار گیرند.

می توان موشها را به کارخانه آنتی بادی سازی تبدیل کرد

محققین آمریکایی اخیراً ادعا کردند که به روشی دست یافته اند که می توانند موشها را تبدیل به کارخانه آنتی بادیهای سفارشی با تولید بالای آنتی بادی کنند.
آنها امید دارند که این روش بتواند منجر به راههای سریعتر و کاراتر شناسایی پروتئین ها شود که به نوبه خود می تواند در طراحی داروهای

جدید، در تست بیماریها مختلف، در تعیین ترادف ژنی و در تحقیقات پایه ای ژنتیکی مورد استفاده داشته باشد. آنتی بادی پروتئین های سیستم ایمنی هستند که می توانند بطور اختصاصی آنتی ژنها را شناسایی کنند. تکامل آنتی بادیها به بدن در جهت مبارزه با عوامل خارجی مثل باکتریها و ویروسها و نیز در جهت ردیابی و تخریب سلولهای تغییر یافته مثل سلولهای سرطانی کمک کرده است. دانشمندان آنتی بادی را بعنوان یک وسیله مثلاً برای انجام تستهای مختلف جهت تشخیص بیماری استفاده می کنند. در آزمایشگاه میتوان آنتی بادیها را طوری تغییر داد که پروتئین ها را برای کاربردهای مختلف شناسایی کنند.
دکتر *Ross Chambers* استادیار پزشکی داخلی مرکز "*Southwesterns Center For Biomedical Inventions*" در دانشگاه تگزاس که روی این پروژه کار می کند، اظهار داشتند آنتی بادیها بیشترین مواد مورد استفاده برای ردیابی و اندازه گیری پروتئین ها در انسان بوده اند ولی تاکنون، تولید آنها بسیار پیچیده و گران بوده است.
بعلت این مشکلات، آنتی بادیهای موجود در بازار امروزه فقط حدود ۴۰۰۰ پروتئین را، که بخش کوچکی از صدها هزار پروتئین موجود در بدن انسان است، مورد هدف قرار میدهند.
دانشمندان در مرکز تحقیقاتی فوق موفق به یافتن روش سریعی برای وادار کردن موشهای آزمایشگاهی به تولید آنتی بادی بر علیه هر پروتئین که خواسته اند شده اند. در این روش در واقع نوعی واکسن ساخته می شود. در سال ۱۹۹۲ این تیم تحقیقاتی روش ایمونیزاسیون ژنتیکی را اختراع کرد که با استفاده از آن دانشمندان، جهت ایجاد پاسخ ایمنی بر علیه یک پروتئین خاص، بجای تزریق پرتئین، ژن را به حیوان آزمایشگاهی تزریق می کردند.
روش جدید مدل تغییر یافته ای از ایمونیزاسیون ژنتیکی است، که در آن از ژن آنتی ژن مربوطه جهت تزریق استفاده میشود. گروه فوق فاکتورهای متعددی را به روش قدیمی اضافه کرده کارایی آن را بسیار بیشتر کرده اند بطوری که سیستم ایمنی موش مقادیر بسیار بیشتری آنتی بادی میسازد. یکی از فاکتورهای اضافه شده ژن یکی از فاکتورهای کنترل کننده ارسال سیگنال در سیستم ایمنی بنام GSF می باشد. یکی از نتایج حیرت آور این گروه با استفاده از روش جدید این بود که موفق شدند موشها را وادار کنند که بر علیه پروتئین های خود نیز آنتی بادی بسازند. آنها اعتقاد دارند که این روش می تواند برای تولید آنتی بادی برعلیه کلیه پروتئین های ژنوم استفاده شود. آنها اعتقاد دارند که ممکن است بتوان از این روش در تستهای تشخیص جدید بنام Biosignatures نیز استفاده کرد. این تستها صدها پروتئین را در مقدار کمی خون بررسی می کنند بطوری که پزشکان می توانند یک بیماری را حتی قبل از اینکه علائم آن ظاهر شود تشخیص دهند.