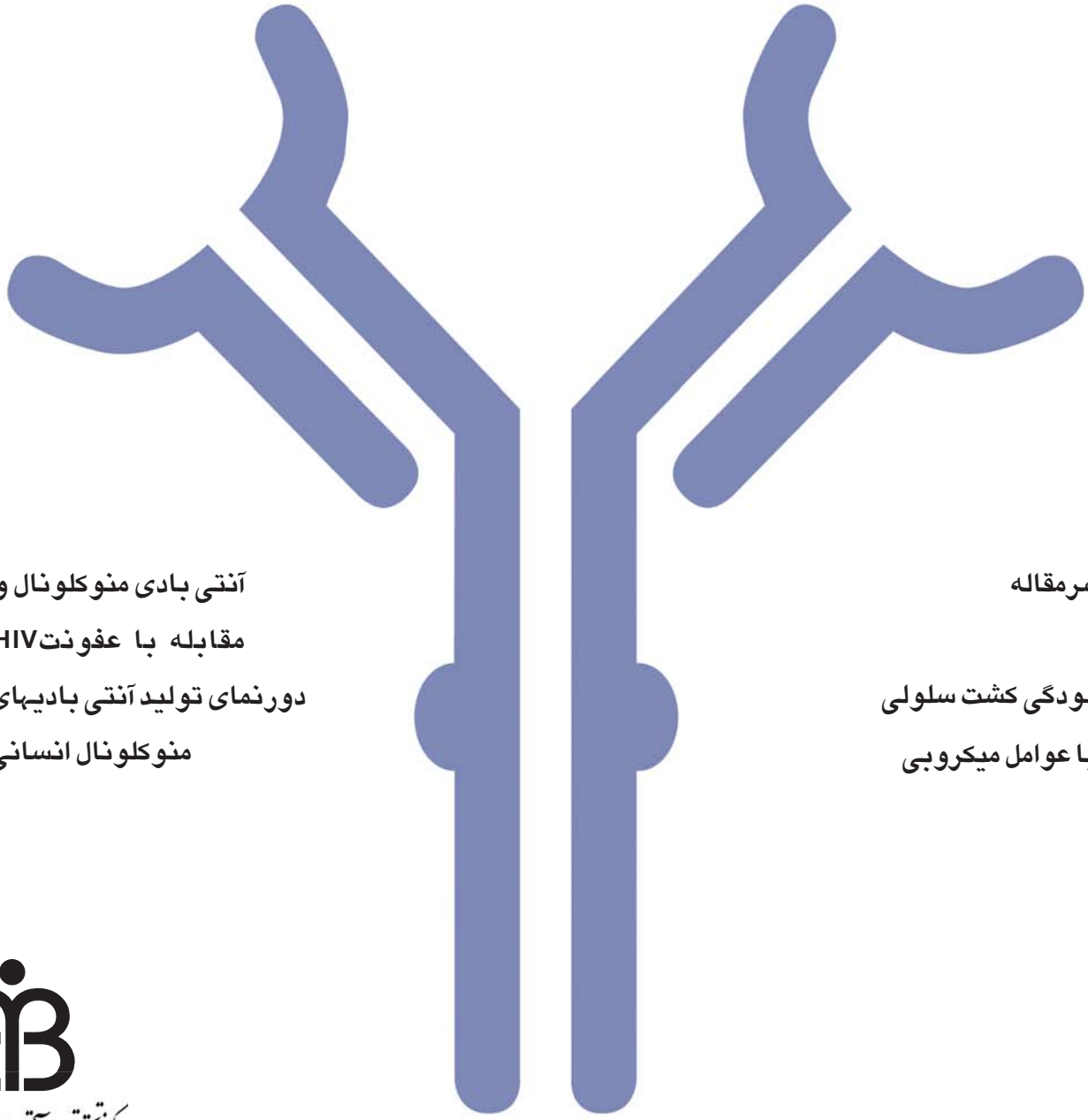
ماهنامه علمی تخصصی

آنتی بادی منوکلونال

سال اول ، شماره ۹

آذرماه۱۳۸۲



سرمقاله

آلودگی کشت سلولی
با عوامل میکروبی

آنتی بادی منوکلونال و
مقابله با عفونتHIV

دورنمای تولید آنتی بادیهای
منوکلونال انسانی

مرکز تحقیقات آنتی بادی منوکلونال
پژوهشکدهٔ ابن سینا
جهاد دانشگاهی

تک شماره ۱۰۰ تومان

بسمه تعالی

ماهنامه تخصصی آنتی‌بادی منوکلونال
سال اول، شماره نهم، آذر ماه ۱۳۸۲

صاحب امتیاز : پژوهشکده ابن سینا
مدیر مسئول : دکتر محمود جدی تهرانی
سر دبیر : 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 فاضل شکری، دکتر محمدرضا صادقی، دکتر علی اکبر صبور یراقی و رویا قدس
مدیر داخلی : شمیسه اسکندری
همکاران اجرایی : پروانه احمدی، فاطمه شاکری، علی رحیمی، الهه علی‌اکبری، ابوالفضل علیزاده، مژده مظهری، لیلا نورزاده
طراحی جلد : اعظم سلطان‌محمدی
گسترهٔ توزیع : سراسر کشور
ترتیب انتشار : ماهنامه
روش : خبری، آموزشی
این نشریه برای شنیدن هر گونه اظهار نظر، پیشنهاد و 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، پژوهشکده ابن‌سینا
تهران: صندوق پستی، ۱۷۷– ۱۹۸۳۵
تلفن: ۲۴۰۲۰۱۱ نمابر: ۲۴۰۳۶۴۱
E-mail: jmab@avesina.ir
Website: http://www.avesina.ir

انالله و اناالیه راجعون

همکار ارجمند جناب آقای دکتر افلاطونیان خبر فوت جمعی از بستگان حضرتعالی در حادثه جانگداز زلزلهٔ بم موجب تألم وتأثر شدید گردید. از خداوند منان برای کلیهٔ درگذشتگان این مصیبت عظمی مغفرت و برای حضرتعالی وسایر بازماندگان صبر جزیل مسئلت داریم.

سرمقاله

دکتر محمود جدی تهرانی

نهمین شماره ماهنامه آنتی‌بادی منوکلونال در شرایطی بدست همکاران محترم می‌رسد که دلهای پاک ملت شریف ایران داغدار غم از دست دادن هزاران تن از هم‌میهنان عزیزمان در فاجعه زلزله شهرستان بم می‌باشد. از سوی خود و تمامی همکاران در ماهنامه آنتی‌بادی منوکلونال این مصیبت عظیم را به ملت شریف، همکاران گرامی و خصوصاً استاد و همکار گرانقدر جناب آقای دکتر افلاطونیان که جمع کثیری از بستگان خود را در این واقعه از دست داده‌اند تسلیت عرض نموده و از خداوند منان طول عمر و صبر برای ایشان مسئلت مینمائیم .
در این شماره با توجه به اهمیت کشتهای سلولی هیبریدوم‌ها در تولید آنتی‌بادیهای منوکلونال و نقشی که آلودگی‌های میکروبی روی این کشتها و بالتبع روی کیفیت محصولات آنها (آنتی‌بادیهای منوکلونال) می‌توانند داشته باشند، مقاله‌ای در ارتباط با آلودگی کشتهای سلولی با عوامل میکروبی تقدیم می‌گردد. همچنین نظر به اهمیت استفاده روزافزون از آنتی‌بادیهای منوکلونال در درمان‌های گوناگون و با توجه به پاسخ ایمنی انسان به آنتی‌بادیهای حیوانی مقاله‌ای درارتباط با انسانی نمودن این آنتی‌بادی ارائه گردیده است که نشانگرپیچیدگی چنین تغییراتی بوده و تاثیر ایمنی‌زایی بخشهای مختلف آلوتیپ و ایدیوتیپ این آنتی‌بادیها پس از انسانی شدن را برای پاسخگویی سیستم ایمنی بیان می‌نماید تا ضمن معرفی اثرات سودمند این تغییرات، پزشگ محترم را بامشکلات استفاده از آنها آشنا نموده تا بتوانند رژیم درمانی مفیدی را طراحی نمایند. با توجه به اهمیت آلودگی با ویروس HIV در جوامع مختلف و ایران، مقاله‌ای نیز در زمینه استفاده از آنتی‌بادیهای منوکلونال گوناگون بر علیه مولکولهای مختلف این ویروس نیز ارائه گردیده است. امید است که همکاران گرامی با ارائه نقطه نظرات سازنده خود ما را در هر چه پربارتر نمودن این ماهنامه یاری فرمایند.

و من ا... التوفیق

مرکز فوق تخصصی درمان ناباروری و سقط مکرر ابن‌سینا افتتاح شد

آلودگی محیط‌های کشت سلولی

دکتر لیلی چمنی‌تبریز

آلودگی محیط‌های کشت سلولی با ارگانیسم‌های مختلف یکی از مشکلات عمده‌ای می‌باشد که اغلب آزمایشگاههای کشت سلولی به دفعات آن را تجربه کرده‌اند و رفع بسیاری از این آلودگی‌ها به آسانی امکان‌پذیر نمی‌باشد و در نتیجه ممکن است نتیجهٔ ماهها تحقیق و کار آزمایشگاهی بدلیل آلودگی‌های مختلف از بین برود.

علل اصلی این آلودگی‌ها در غالب موارد، عبارتند از:

سایر رده‌های سلولی، شرایط نامناسب آزمایشگاهی، تجربه کم کارکنان در کار آزمایشگاه و عدم رعایت دقیق اصول کار به روش آسپتیک.

از بین علل اصلی آلودگی، آنچه اهمیت بسیار زیادی پیدا می‌کند و با کمی توجه و دقت نیز به آسانی قابل رفع کردن می‌باشد؛ رعایت دقیق اصول کار آسپتیک در آزمایشگاه کشت سلولی می‌باشد.

سه گروه اصلی از میکروارگانیسم‌ها معمولاً محیط کشت را آلوده می‌کنند که به ترتیب اهمیت و شیوع عبارتند از:

۱- باکتریها و قارچها ۲- میکوپلاسماها ۳- ویروسها

۱-آلودگی با باکتریها و قارچها

آلودگی‌های باکتریایی اغلب با چشم غیر مسلح نیز قابل مشاهده هستند و به صورت افزایش ناگهانی کدورت محیط و تغییر رنگ محیط کشت ناشی از تغییر در PH جلب توجه می‌کنند. سلول‌های کشت شده پس از آلودگی ممکن است تا مدتی زنده بمانند ولی در نهایت مرگ سلولی روی خواهد داد. مشاهده روزانه کشت‌ها زیر میکروسکوپ می‌تواند به کشف زودرس و تصمیم‌گیری صحیح جهت مقابله با آلودگی کمک کند. بعلاوه تست‌های اختصاصی به منظور کشف باکتریها و قارچها باید به طور روتین و مرتب در برنامه کنترل کیفیت کشت‌های سلولی انجام شوند.

۲-آلودگی با میکوپلاسماها:

آلودگی محیط‌های کشت سلولی با میکوپلاسماها از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. تحقیقات نشان می‌دهند که ۵۰-۱۵٪ کشت‌های سلولی با یک یا چند گونه از میکوپلاسماها با غلظت 10^{7}-10^{8}cfu/ml محیط کشت آلوده می‌شوند. اندازه کوچک این میکروارگانیسم و فقدان دیواره سلولی، این امکان را فراهم می‌سازد که با غلظت بسیار بالایی سلولها را آلوده سازند و میزان آلودگی درکشت سلولهایی که به طور معمول در محیط‌های حاوی آنتی‌بیوتیک رشد می‌کنند بیشتر است.

میکوپلاسماها کوچکترین سلولهای پروکاریوتی هستند که زندگی مستقل و آزاد داشته و قادر به تکثیر می‌باشند. میکوپلاسماها فاقد دیواره سلولی هستند، بین0.2-0.35 میکرون قطر دارند و در اشکال چندشکلی، رشته‌ای یا کروی دیده می‌شوند. ۵ گونه عمده از میکوپلاسماها که در محیط‌های کشت سلولی ایجاد آلودگی می‌کنند عبارتند از:

1- Mycoplasma hominis 2- Mycoplasma arginini
3- Mycoplasma orale 4- Mycoplasma fermentans
5-Acholeplasma laidlawii

تاثیر میکوپلاسماها روی کشت سلولی از سایر باکتریهای آلوده کننده کندتر است و در درازمدت می‌توانند روی تمام خصوصیات و پارامترهای کشت سلولی از جمله درصد رشد و انتخاب هیبریدوم‌ها (hybridoma selection rates)، سنتر پروتئین‌ها و اسیدهای‌نوکلئیک، ایمونوژنیسیته، شکست کروموزومی و تولیداتی از قبیل انترفرون و آنتی‌بادی‌ها منجمله آنتی‌بادیهای منوکلونال تاثیر بسزایی بگذارند. همچنین مطالعه بر روی سلولهای آلوده به میکوپلاسما می‌تواند منجر به نتایجی شود که قابل اعتماد نیستند و یا محصولاتی تولید شود که از نظر بیولوژیکی آلوده هستند. تشخیص آلودگی میکوپلاسمایی در محیط کشت بسیار دشوار است زیرا برخلاف‌اغلب باکتریها، مخمرها یا قارچها، میکوپلاسماها به طور تیپیک کدورت یا PH محیط کشت را تغییر نمی‌دهند. بنابراین کشف آنها نیاز به تستهای اختصاصی و افرادی متخصص برای انجام و تفسیر تستها دارد.

این تستها بر اساس کشت مستقیم یا اندازه‌گیری مارکرهای بیومدیکال اختصاصی یا سایر خصوصیات میکوپلاسماها صورت می‌گیرد. برای انجام کشت مستقیم به یک یا دو محیط اختصاصی حاوی نیازهای تغذیه‌ای میکوپلاسما و کنترل دقیق شرایط محیطی نیاز است ولی حتی در این شرایط نیز برخی گونه‌های میکوپلاسمایی به سختی رشد خواهند کرد. در صورتی که کشت‌ها دقیق انجام شوند و بخوبی با کنترل مثبت و کنترل منفی مناسب چک شوند می‌توانند دقیق‌ترین نتایج را به همراه داشته باشند ولی رسیدن به نتیجه گاهی تا ۲۸ روز طول می‌کشد و گاهی نیاز به تکرار کشت میکوپلاسما در دفعات دیگری می‌باشد.

تستهای غیر مستقیم متعددی با حساسیت‌های مختلف در دسترس هستند از قبیل: رنگ‌آمیزی فلورسانسDNA, DNA پروب‌ها، PCR, ELISA، ایمونوفلورسانس و تستهای اختصاصی بیومدیکال. این تستها از کشت سریعتر جواب می‌دهند ولی حساسیت کمتری دارند و برای مثبت شدن نیازمند غلظتهای بالایی (تقریبا 10^{4} ارگانیسم در هر میلی‌لیتر) هستند. ولی قادرند علاوه بر سرعت عمل بیشتر، میکوپلاسماهای غیر قابل کشت را نیز شناسایی کنند.

به منظور حذف میکوپلاسماها بعد از انتخاب تستی که برای آزمایشگاه شما مناسب و عملی باشد باید ۵ مرحله زیر را در نظر گرفت:

۱- تمام رده‌های سلولی را که در حال حاضر در دست کشت دارید از نظر میکوپلاسما آزمایش نمایید.

۲- تمام سلولهایی که به آزمایشگاه وارد می‌شوند را قرنطینه نموده و تست کنید و همچنین سلولهایی را که به مدت طولانی ذخیره شده‌اند را نیز مجدداً تست نمایید.

۳- بطور مرتب (مثلاً هر ماه) کشت‌های خود را از نظر آلودگی میکوپلاسما تست کنید.

۴- مطمئن شوید تمام سلولهایی که ذخیره می‌کنید قبل از فریزشدن بطور کامل ارزیابی می‌شوند.
۵- سرم‌های جدید را بطور مرتب و در فواصل خاصی از نظر آلودگی با میکوپلاسما چک کنید.

برای جلوگیری از رشد و تکثیر میکوپلاسماها از محیط کشت حتماً لازم است از ترکیب دو یا چند دارو استفاده نمود زیرا درصد ایجاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک در میکوپلاسماها بالا است. شایعترین داروهای مصرفی ترکیب یک ماکرولید (اریترومایسین یا تیامولین) ویک تتراسیکلین (مینوسیکلین) به محیط کشت است که می‌توان این ترکیبات را به صورت آماده و با نامهای تجاری مختلف از جمله:

Normocin™ که حاوی سه ترکیب آنتی‌بیوتیکی ضد میکوپلاسما، ضد باکتری و ضد قارچ است و دارای خواص مهار همانندسازیDNA توسط مهار DNA gyrase و مهار سنتزپروتئین می‌باشد و به صورت محلول در آب قابل افزودن به محیط کشت سلولی است و یا Plasmaocin™ که ترکیب دو آنتی بیوتیک از گروههای ذکر شده است را تهیه کرد و به محیط کشت اضافه نمود.

۳-آلودگی با ویروسها:

در تعیین آلودگی کشت سلول با انواع ویروسها باید دقت کرد که برخی رده‌های سلولی حاوی ویروسهای اندوژن هستند و اجزاء ویروس را ترشح می‌کنند یا آنتی‌ژنهای ویروسی را در سطح خود ارائه می‌کنند مانند رده‌های سلول که با ویروس ابشتاین بار ترانسفرم شده‌اند (EBV transformed cell lines) که این رده‌های سلولی آلوده محسوب نمی‌شوند.آلودگی با ویروس‌های دیگر هم وجود دارد که خصوصاً در محیطهای کشت حاوی سرم گاوی می‌تواند مشاهده شود زیرا سرم گاو یک منبع غنی برای آلودگی محیط با ویروس اسهال گاوی (Bovine Viral Diarrhea virus) است و استفاده از سرم آلوده می‌تواند به آلودگی سلولهای کشت‌داده شده با این ویروس، منجر شود. این آلودگی باعث تغییرات مختصر در رشد سلولها می‌شود ولی از آنجایی که BVDV فاقد خاصیت سیتوپاتیک است، تغییرات میکروسکوپیک با ماکروسکوپیک در کشت سلولی روی نمی‌دهد. از سالهای اخیر تهیه‌کنندگان سرم گاوی به این مشکل بخوبی توجه دارند و سرم‌های تهیه شده مورد کنترل و غربالگری دقیقی قرار می‌گیرند و با عنوان "آزمایش شده از نظر BVDV "عرضه می‌شوند و باید دقت نمود که حتی‌الامکان از سرمهای تست شده استفاده شود.

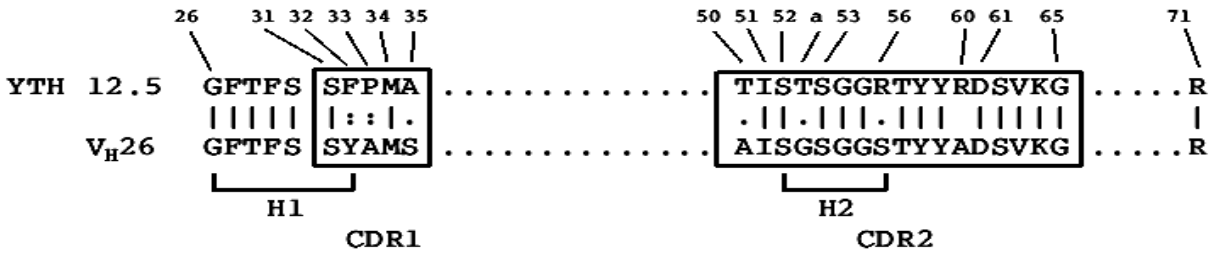
دورنمای تولید آنتی‌بادیهای منوکلونال غیر ایمونوژن

دکتر پونه دوکوهکی

همانگونه که در شماره قبل بحث شد، دو علت عمده برای انسانی کردن (humanizing) آنتی‌بادیهای منوکلونال وجود دارد. اولین دلیل، بهره گرفتن از ارتباط متقابل (Interactive) میان ایزوتیپ‌های مختلف ایمنوگلبولین انسان و مکانیسم‌های عملکردی سلولی و هومورال است. دومین علت که اهمیت آن به اندازه دلیل اول و حتی از منظری مهمتر از آن است، پرهیز از پاسخهای ضدگلبولینی به آنتی‌بادیهای درمانی تجویز شده است که شایع‌ترین عارضه تجویز آنتی‌بادیهای منوکلونال معمول است. این پاسخ ضدگلبولینی در ساده‌ترین حالت تنها به میزان بخشهای غیر انسانی از آنتی‌بادی منوکلونال بستگی دارد که این میزان در آنتی‌بادیهای تغییر شکل یافته (Reshaped) قاعدتاً نباید از شش ناحیه CDR (Complementarity Determining Region) تجاوز کند.

بطور کلی، پاسخ ضدگلبولینی یک پاسخ سلولهای B است که وابسته به سلولهای T می باشد. بنابراین لازم است تا آنتی‌بادی تجویز شده به عنوان یک آنتی‌ژنپروتئینی تجزیه شود و احتمالاً در زمینه مولکولهای MHC Π توسط سلولهای ارائه کننده آنتی‌ژن(APC) عرضه گردد. برای عرضه آنتی‌ژنهای پروتئینی در زمینه MHC باید حداقل ۱۰-۹ اسیدآمینه متوالی در شیار مربوطه قرار گیرند و به سلولهای T عرضه شوند. بنابراین استفاده از نواحی ثابت (Constant) و زمینه ای (Framework) انسانی احتمال ایجاد پاسخهای وابسته به کمک سلولهای T را به حداقل می رساند زیرا قاعدتاً سلولهای T هر انسان باید نسبت به سکانس‌های مربوط به ایمنوگلبولین انسانی تحمل (Tolerance) داشته باشند.

ولی متاسفانه این نگاه ساده‌انگارانه ای است که می‌توان از کلیه پاسخهای ضدگلبولینی جلوگیری کرد. مسئله‌ای که پیشرفت تحقیقات را در زمینهٔ مذکور با مشکل مواجه ساخته است، این حقیقت است که جامعه انسانی یک جمعیت ناهمگون از نظر نژادی (Outbred) است. یعنی حتی برای هر ناحیه ثابت ایمنوگلبولین، الل‌های (alleles) متفاوت وجود دارد که هر کدام حامل مارکرهای آلوتیپی هستند و بطور طبیعی پاسخهای ضدگلبولینی بر علیه این مارکرها قابل شناسایی هستند. این تفاوت ها در مورد قسمت متغیر بسیار پیچیده ترهستند و سگمانهای ناحیه متغیر نسبت به نواحی ثابت درجات بیشتری از تفاوت



شکل (۱)

چه در آلوتیپ‌ها و چه در هاپلوتیپ‌ها را نشان می‌دهند. ثابت شده است که در نقشه برداری (mapping) از سگمانهای ناحیه متغیر زنجیره سنگین (V_H)، بسیاری از افراد آلل‌های null دارند و بنابراین این بیماران می‌توانند بطور بالقوه آنتی‌بادیهایی که حامل این سگمان V هستند را به عنوان بیگانه شناسایی کنند. پیچیدگی بیشتر در رابطه با نواحی متغیر از آنجا ناشی می‌شود که قسمت متغیر آنتی‌بادی اختصاصی هر آنتی‌ژنبوسیله بازآرایی و کنار هم قرار گرفتن سگمانهای V شکل می‌گیرد و ساختمان آنها در غالب موارد توسط مکانیسم بلوغ میل اتصالی (affinity maturation) باز هم تغییرات جزیی ولی قابل توجه می‌یابد. در نتیجه، حتی در مورد آنتی‌بادیهای منوکلونال موشی که بر علیه آنتی‌ژنهای کمپلکس که در موش‌های خالص (inbred) تولید شده است مشاهده می‌گردد که ناحیه V آن دقیقاً شبیه آنتی‌بادی از یک موش دیگر در همان نژاد نخواهد بود. این مسئله بطور جدی‌تری در انسان که از نظر نژادی خالص نیست مشاهده می شود.

بنابراین تمام آنتی‌بادیهای منوکلونال حتی اگر کاملاً انسانی شده باشند ، ایمونوژن‌های بالقوه‌ای برای آلوتیپ‌های ناحیه ثابت یا ایدیوتیپ‌های ناحیه متغیر هستند. با این وجود، مباحث ذکر شده بخودی خود ناقض فرآیند انسانی کردن آنتی‌بادیهای منوکلونال نیستند زیرا موضوعی که در اثر بخشی مواد درمانی از جمله آنتی‌بادیهای منوکلونال مهم است این مسئله است که با چه مقدار دوز، در چه فاصله زمانی و پس از چه مدت اثرات درمانی آنتی‌بادیهای منوکلونال تحت تاثیر عارضه جانبی ناخواسته این داروها یعنی پاسخ ضدگلبولینی قرار می‌گیرند. به عبارت دیگر اگر فاصله ایجاد پاسخ ضد گلبولینی در دوزهای بسیار بالا و در مدت زمان طولانی باشد، چه بسا که بسیاری از بیماران قبل از ایجاد این پاسخ، از اثرات درمانی آنتی‌بادیهای منوکلونال انسانی شده سود برده باشند.

شدت پاسخهای ضدگلبولینی تنها بوسیله شدت بیگانگی آنتی‌بادی منوکلونال از نظر آنتی‌ژنتیک کنترل نمی‌شود. سایر عوامل مانند طبیعت آنتی‌ژن هدف، نوع سلول هدف و نحوه تقابل آنتی‌بادی با هر دوی اینها نیز مهم می‌باشند. به عنوان مثال اگر آنتی‌بادی منوکلونال رت بر علیه CAMPATH-1 برای درمان لنفوم سلول B بکار برده شود، تنها در ۱۰٪ بیماران پاسخ ضد گلبولینی ایجاد می‌شود زیرا به علت اینکه این آنتی‌بادی برای لنفوسیت‌های TوB سیتولیتیک است؛ ایمنوساپرسیو بسیار قوی است و در نتیجه پاسخ ضد گلبولینی را هم تا حدودی مهارمی‌سازد. در مقایسه، آنتی‌بادی منوکلونال موشی OKT3 که مارکر CD3 را شناسایی می‌کند و ایمنوساپرسیو هم است، در ۸۰-۴۰٪ بیماران پاسخ ضد گلوبینی ایجاد میکند. این مسئله احتمالاً به نحوهٔ شناسایی و اتصال این آنتی‌بادی به آنتی‌ژن CD3 بر می‌گردد که قادر به القاء فعالیت در سلولهای T در مراحل اول پاسخ ایمنی و سرکوب ایمنی در مراحل بعدی می‌باشد. بنابراین نوع آنتی‌ژن مورد شناسایی و سلول هدف در تعیین پاسخهای ضدگلبولینی در درمان با آنتی‌بادیهای منوکلونال بسیار مهم هستند.

با توجه به عوامل ذکر شده، این امکان حتی در مورد آنتی‌بادیهای کاملاً انسانی شده نیز وجود دارد که پاسخ ضدگلبولینی حداقل در درصدی از بیماران، پس از تجویزهای مکرر آنتی‌بادی ایجاد شود. اگر چه آلوتیپ‌های متفاوتی برای زنجیره سنگین شناخته شده است ولی با توجه به مطالعات تجربی، تقریباً تمام پاسخهای ضدگلبولینی در آنتی‌بادیهای کاملاً انسانی شده بر علیه ایدیوتیپ آنتی‌بادی است و این مسئله امکان ادامه در مان با آنتی‌بادی دیگری با خصوصیات مشابه و ایدیوتیپ متفاوت را فراهم می سازد. مسئله اصلی این است که اثر بخشی درمانی بیش از مضرات اثرات جانبی و هزینه آن باشد.

خوشبختانه آنچه که اغلب مطالعات بالینی به آن اذعان دارند، این است که مزایای درمانی آنتی‌بادیهای کاملاً انسانی شده در مقایسه با آنتی‌بادیهای هیبرید بیش از اثرات جانبی آن می باشد زیرا مدت زمان نسبتاً زیادی می توان دارو را تجویز نمود قبل از آنکه پاسخهای ضدگلوبینی در تیتر بالا بتوانند اثرات درمانی این آنتی‌بادیها را خنثی سازند.

از نظر تئوریک، برای کاهش بیشترایمنوژنیسیته آنتی‌بادیهای منوکلونال انسانی شده می‌توان تمهیداتی اندیشید که انجام آنها در سطح بالینی نیاز به تحقیقات گسترده تری دارد . اگر به آنتی‌بادیهای منوکلونال انسانی شده نگاه دقیقتری بیندازیم مشخص می شود که تنها سه ناحیه CDR1 ، CDR2 ، CDR3 و برخی نواحی محدود زمینه‌ای مانند Framework4 عیناً مشابه مناطق کد شده در آنتی‌بادی منوکلونال اصلی با منشاء جوندگان است. از آنجائیکه نواحی زمینه ای نواحی نسبتاً حفظ شده‌ای (Conserved) هستند (به عنوان مثال سکانس اسیدآمینه F4 کاملاً مشابه ناحیه J_{H6} انسان است) و ناحیه CDR3 نیز به علت اینکه بسیار متغیر می باشد و تقریباً هیچ موتیف اختصاصی در یک گونه (Species specific) در آن دیده نشده است، لذا نواحی باقیمانده یعنی CDR2وCDR1 مناطقی هستند که تغییر آنها در آنتی‌بادیهای منوکلونال به کاهش ایمنوژنیسیته آنها کمک مینماید. همانگونه که در شکل (۱) مشاهده می‌شود، نواحی CDR1 و CDR2حاوی موتیف‌های اختصاصی در هر گونه هستند. در این شکل ناحیه YTH $12.5V_H$ رت و V_H26 انسان با یکدیگر مقایسه شده‌اند و مشاهده می‌گردد که از ۵ اسیدآمینه CDR1 سه اسیدآمینه با یکدیگر متفاوت هستند. تغییر این سه اسیدآمینه بصورتی که تمایل اتصال به آنتی‌ژنو شکل حلقه (loop) مربوط تغییر ننماید کار بسیار مشکلی است و شده است تا حداقل تعداد سکانسهای ضروری برای حفظ تمایل اتصال به آنتی‌ژن از آنتی‌بادی منوکلونال جوندگان حفظ گردد و بوسیله تکنولوژی تولید هیبریدوم، و یا انتقال بوسیله فاژ (phage transfer) کد مربوطه این سکانسها در سگمانهای ژن ناحیه متغیر انسانی گنجانده شود.

در این حالت نیز تغییرات آلوتیپی مربوط به ناحیه متغیر (V region allotypes) در جمعیت غیر همگون انسانی مشکل ساز خواهد بود ولی در تئوری می‌توان بر این مشکل نیز بوسیله بانک ژنی ترکیبی ناحیهV (combinatorial V gene library) به همراه القاء موتاسیون‌ها و انتخاب بر اساس تمایل اتصال (affinity selection) فائق آمد.

مشکل دیگری که به شدت مورد قبلی، مسئله‌ساز نیست ولی می‌تواند یک علت بالقوه برای القاء پاسخ ایمنی خصوصاً پروتکل‌های درازمدت

Monoclonal antibody	Antigenic specificity	H chain acceptor V region	L chain acceptor V region	Comments
CAMPATH-IG	CDw 52	NEW	REI	NEW structure solved crystallographically; poor homology with Campath 1G. 1 donor V_H Fw residues was required to maintain antigen binding, 3 donor V_L FW residues were also included. Affinity fall of 2-3 fold
anti- Tac	CD25 (IL-receptor)	EU	EU	Chosen to maximize homology + molecular modeling to identify potentially important donor Fw residues. 7 donor V_H and 2 donor V_L Fw residues included on structural grounds, a further 5 V_H and 1 V_L donor residues were included to change atypical Eu residues to human consensus. Affinity fall of 3 fold
CAMPATH-9	CD4	KOL	REI	Chosen to maximize homology, no donor Fw residues included. Affinity fall of 3 fold
BMA 031	α/β TCR	EU	EU	Chosen to maximise homology, J_H and J_L regions assessed independently. Donor Fw residues within 4 places of the CDRs plus others to replace atypical EU residues were also included (total of 16 V_H and 7 V_L donor Fw amino acids). Affinity fall of 2.5 fold.
Fd 138-80	HSV-1	EU	EU	Strategy as for anti-Tac. 6 V_H and 2 V_L donor Fw residues included on structural grounds, a further 6 V_H and 2 V_L EU residues were convented to human consensus. No fall in affinity.
FD 79	HSV-1	POM	POM	Strategy as for anti-Tac. 1 V_H and 1 V_L donor Fw reside include on structural grounds, a further 2 V_H and 5 V_L POM Fw amino acids were converted to human consensus. Affinity fall of 2 fold.
RSV 19	RSV	NEW	REI	4donorV_HFw residues required to restore some binding activity.Fall in affinity,degree uncertain.
mAb 425	hEGFR	Consensus of human VHI gene	REI	Consensus V_H Fw sequences consisted of the most commonly occurring human residues as defined by Kabat et al 1987, plus mouse residues at positions having no preferred human amino acid. Potential somatic mutations in the mouse Fws, identified by comparison with other mouse V regions, were also included. Several donor Fw residues were required for antigen binding (5 V_H, 1 V_L). Affinity fall of 40%.
YTH12.5	CD3	anti-DNA hybridoma (V_H 26 +J_H4)	SUT	Chosen to maximize homology, no donor Fw residues included. Affinity fall of 1.3 fold.
M 195	CD33	KOL	EU	Strategy as for anti- Tac, 7 V_H and 3 V_L donor Fw residues on structural grouns. A further 5 V_H and 3 V_L EU Fw amino acids were changed to human consensus. Affinity rise of 3 fold.
OKT3	CD3	KOL	REI	KOL structure solved crystallographically, poor homology with OKT3 V_H 11 V_H and 2 V_L donor Fw residues were required for binding activity. Affinity fall of 2 fold.
mAb 4D5	hEGFR2	consenusus of human V_H III	Consensus sequence of human V_KI	Computer modeling to identify potentially important donor Fw amino acids. 5 V_H and 2 V_L donor Fw residues were required for binding activity.Affinity rise of 3 fold.
UCHT1	CD3	consensus of human V_HIII	Consensus sequence of human V_KI	Computer modeling to identify potentially important donor Fw residues. Affinity fall, degree unknown.

HSV, Herpes Simplex Virus; RSV, Respiratory Syncitial Viurs; hEGFR, Human Epidermal Growth Factor Receptor

جدول (۱)

درمانی باشد، مسئله موتاسیونهای سوماتیکی است که در قسمت متغیر آنتی‌بادی‌های انسانی مورد استفاده در طراحی آنتی‌بادیهای منوکلونال انسانی شده دیده می‌شود. اغلب این نواحی متغیر که بدنه اصلی (acceptor framework) آنتی‌بادیهای انسانی شده را تشکیل می‌دهند، از ژنهای بازآرایی شده پروتئین‌های میلومی در بیماران مبتلا به میلوم گرفته شده‌اند (جدول ۱). بنابراین احتمال زیادی وجود دارد که این ژنها حاوی موتاسیونهای سوماتیک نسبتاً فراوانی باشند. تعیین این موتاسیونهای سوماتیک با مقایسه توالی ژنهای بازآرایی شده با توالی ژن در سلولهای ژرم (germ line) مقدور می‌باشد و مشاهده شده است که فرکانس این نوع موتاسیون‌ها در انواع سرطانها، خصوصاً سرطانهای خونی بسیار بالا می‌باشد. در نتیجه همواره این امکان وجود دارد که بیماران تحت درمان با این نوع آنتی‌بادیهای منوکلونال، قسمت متغیر را به عنوان بیگانه تشخیص دهند زیرا این موتاسیونها در اکثرموارد منحصر به همان فردی است که ژن ناحیه متغیر بازآرایی شده از او گرفته شده است. با افزایش اطلاعات ما در مورد ژن‌های متغیر ژرم‌لاین انسانی امکان استفاده از این ژنها در طراحی آنتی‌بادیهای منوکلونال درمانی فراهم خواهد شد و در نتیجه این احتمال وجود دارد که از ایمونوژ نیستیه این آنتی‌بادیها حتی در پروتکل‌های طولانی مدت نیز جلوگیری شود.

مقابله با ویروس HIV با استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال

دکتر رضا بهجتی اردکانی

امروزه دانشمندان به طور روز افزونی به تولید آنتی‌بادی‌های منوکلونال جهت مقابله با ویروس HIV روی آورده اند. این آنتی‌بادیها بر قسمتهای مختلف ویروس تاثیر میگذارند و باعث خنثی شدن آن می‌شوند. بطور مثال آنزیم پروتئاز ویروس که نقش مهمی درتکامل اجزاء آلوده‌کننده ویروس دارد از نظر تولید آنتی‌بادی اختصاصی بر ضد آن مورد توجه قرار گرفته است . در یک مطالعه، چند آنتی‌بادی منوکلونال ضدپروتئاز HIV تولید گردید و دو آنتی‌بادی که باعث مهار آنزیم می‌شدند انتخاب گردیدند. این دو آنتی‌بادی دارای قدرت مهاری در غلظتهای پایین در حد نانومولار هستند و اپی‌توپهای متفاوتی از آنزیم پروتئاز را شناسایی می‌کنند این آنتی‌بادیها از طریق تغییر در ساختار فضایی آنزیم باعث مهار عملکرد آن می گردند . یکی از این آنتی‌بادیها (F12.2.32) با پپتید سگمان ۳۶ تا ۴۶ پروتئاز وارد عمل می‌شود و دیگری (1696) با پپتید سگمان ۱ تا ۷ یا سگمانهای بزرگتر وارد عمل می‌گردد. این آنتی‌بادی با آنزیم پروتئاز HIV-2 نیز واکنش متقاطع دارد. در مطالعه دیگری تولید گونه‌ای ویروس کایمریک متشکل از ویروس نقص سیستم ایمنی تیپ ۱ انسانی و ویروس نقص سیستم ایمنی میمون (SHIV) این امکان را ایجاد کرد تا پاسخهای ایمنی بر علیه پوشش گلیکوپروتئینی HIV-1 مورد بررسی قرار گیرد.با استفاده از این مدل ، نشان داده شده است که ایمنی‌زایی غیر فعال از طریق تزریق آنتی‌بادی، می تواند نقش محافظتی بر علیه تزریق داخل وریدی ویروس داشته باشد. اما HIV-1 معمولاً از طریق سطوح مخاطی وارد بدن می‌شود و مدل آلوده سازی از طریق داخل وریدی نمی تواند دقیقاً نقش محافظتی آنتی‌بادی را در آلوده‌سازی مخاطی پیش‌گویی کند. پس از کنترل سیکل قاعدگی میمون با پروژسترون ، اثرات آنتی‌بادیهای خنثی‌کننده 2F5 و 2G12 ضدگلیکوپروتئین HIV تست شد. ۵ میمون کنترل، ویرمی شدید و افت CD4 را نشان دادند اما ۱۴ میمون درمان شده با آنتی‌بادی کاملاً در برابر عفونت و تلقیح SHIV مقاومت نمودند . استفاده همزمان از سه آنتی‌بادی بیشترین میزان مقاومت را نشان داد. اما استفاده از یک آنتی‌بادی منوکلونال با اثر نسبتاً کم غیرفعال‌کنندگی نیزموثر بود، با مقایسه مطالعات قبلی دیده شد که در آلوده‌سازی واژینال میزان محافظت بیشتر است. هنوز نحوه عملکرد آنتی‌بادی در آلودگی مخاطی در دست بررسی است.در تحقیق دیگری آنتی‌بادی های خنثی‌کننده ویروسها بر علیهgp120 که یک ناحیه بسیار متغیر(V3) از پوشش گلیکوپروتئینی HIV-1 می‌باشد ساخته شده‌اند. این ناحیه به عنوان " شاخص اصلی خنثی کننده" (PND) شناخته شده است. متاسفانه این قسمت توسط یکی از پرموتاسیون ترین سکانسهای ژنوم HIV کد می شود و اثرات خنثی‌سازی آنتی‌بادی بر علیه PND معمولاً رده های ویروسی موتاسیون یافته را شامل نمی شود. این امید وجود دارد که با شناسایی ساختار آنتی‌بادی مذکور بتوان پایه‌ای برای درک مکانیسم خنثی‌سازی ویروس توسط آنتی‌بادی را بدست آورد اما این امید هنوز به واقعیت نرسیده است. آنتی‌بادی خنثی کننده که در این مطالعه استفاده شده (C3-519) یک اپی‌توپ از چهارمین ناحیه حفظ شدهgp120 (C4) که نقش مهمی در واکنش با CD4 بازی می‌کند را شناسایی می‌کند. این آنتی‌بادی در محیط آزمایشگاه گونه‌های مختلفHIV-1 را خنثی می‌کند. جالب توجه اینجاست که میزبانهای انسانی هنگام عفونت علیه این جایگاه خنثی کننده، آنتی‌بادی تولید نمی‌کنند. لذا اطلاعات در مورد ساختار این آنتی‌بادیهای خنثی‌کننده می‌تواند برای طراحی و ساخت داروهای ضد HIV حائز اهمیت باشد.

آنتی‌بادی دیگری که داده‌های مربوط به آن توسط دکتر Daniel Kritzkes در دهمین کنفرانس ویروسها و عفونت‌های فرصت طلب ارائه شد TNX-355(HV5A8) نام دارد. اولین آزمایش انسانی آنتی‌بادی منوکلونال فوق که ضد CD4 است نشان داد که این آنتی‌بادی علاوه بر اینکه بی‌خطر است و به خوبی تحمل می‌شود ، می‌تواند بطور قابل توجهی میزان بارگذاری RNA ویروس HIV را کاهش می‌دهد. این پپتید فرم انسانی آنتی‌بادی منوکلونال موشی از خانواده IgG4 است که اپی‌توپهای جایگاه ۲ رسپتور CD4 را شناسایی می‌نماید مطالعات نشان داده است که فرآورده مذکور بر تمام انواع HIV اثر مهاری داشته و هر دو نوع ویروس HIV، با میل اتصال به CCR5 و CXCR4، را مهار می‌کند . این آنتی‌بادی در عین حال مهارکننده سیستم ایمنی نمی‌باشد . این آنتی‌بادی به کناره رسپتور CD4 می چسبد به گونه ای که با عملکرد طبیعی آن به عنوان رسپتور کموکاین تداخل نمی کند . این آنتی‌بادی مانع اتصال HIV به رسپتور CD4 نمی‌شود بلکه مراحل بعدی ورود ویروس به سلول را مهار می‌کند. نتایج تجویز تک دوز در انسانها امیدوارکننده بوده است. با این حال این موضوع باید دقیقاً در فاز دوم آزمون بالینی بررسی شود.

دومین نمایشگاه بین المللی معلولین و لوازم توانبخشی بهمن ماه برگزار می گردد

دومین نمایشگاه بین المللی معلولین و لوازم توانبخشی با هدف به نمایش گذاشتن توانمندیها و خلاقیتهای تولیدکنندگان داخلی و آشنایی با آخرین دستاوردها و فناوریهای بین المللی ویژه معلولین برگزار می گردد. در این نمایشگاه محصولات و فناوریهای پیشرفته در بخشهای لوازم و تجهیزات توانبخشی، لوازم آموزشی، فرهنگی و خدماتی ویژه معلولین به نمایش گذاشته می شود. لازم به ذکر است دومین نمایشگاه بین المللی معلولین و لوازم توانبخشی، از تاریخ ۱ الی ۵ بهمن ماه سالجاری ۱۳۸۲ در سالن ۲۷ نمایشگاه بین المللی تهران برگزار می گردد.