بسمه تعالی

یا مقلب القلوب و الابصار
یا مدبر اللیل و النهار
یا محول الحول و الاحوال
حول حالنا الی احسن الحال

سال نو مبارک

صاحب امتیاز: پژوهشکده ابن سینا

مدیر مسئول: دکتر محمود جدی تهرانی

سر دبیر: دکتر پونه دوکوهکی

شورای علمی نشریه: دکتر رضا بهجتی، علی احمد بیات، دکتر محمود جدی تهرانی، دکتر 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

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

سرمقاله

دکتر محمود جدی تهرانی

پیشرفتهای شگرف علمی در یکی دو دههٔ اخیر در قالب بیوتکنولوژی تجلی خاصی داشته است. تولیدات بیوتکنولوژی با استفاده از آخرین فناوریهای پیشرفته در حال ایجاد دگرگونی در بسیاری از شئون علمی، اجتماعی، اقتصادی و .... می‌باشند. یکی از تولیدات بیوتکنولوژی، آنتی بادیهای منوکلونال می‌باشند. تولید این آنتی بادیها که با ابتکار دو دانشمند معروف بنام‌های کهلر و میلشتاین در سال ۱۹۷۵ آغاز شد، تحولی بزرگ در علم پزشکی و علوم وابسته ایجاد نمود. استفاده از این آنتی بادیها در تشخیص و درمان، کمکهای شایانی به این علم نمود بگونه‌ای که در ابتدای پیدایش، به این آنتی‌بادیها گلولهٔ جادویی گفته شد. این آنتی بادیها با هدف گیری دقیق مولکول هدف خود موجب تسهیل در تشخیص بیماریها از جمله سرطانهای گوناگون و دیگر موارد و نیز به عنوان وسیله‌ای برای هدف گیری و از بین بردن سلولهای سرطانی و حتی خنثی سازی سم‌ها در بدن و موارد مشابه گردیدند.

کاربرد وسیع این آنتی بادیها در پیشگیری، تشخیص و درمان انواع بیماریها، تولید منسجم و وسیع آنها را در کشور هر چه بیشتر ضروری نمود؛ لذا در سال ۱۳۸۰ مرکز تحقیقات آنتی بادی منوکلونال وابسته به پژوهشکده ابن سینا جهاد دانشگاهی، با هدف ارائه خدمات تولیدی و تحقیقاتی در زمینه آنتی بادیهای منوکلونال تأسیس گردید. در مدت کوتاهی که از تأسیس این مرکز می‌گذرد، تاکنون چندین آنتی بادی از جمله آنتی بادیهای ضد آنتی ژنهای سطح اسپرم، ضد فریتین، PSA، BSA و پپتیدهای گوناگون تولید شده‌اند.

در اولین شماره ماهنامه آنتی بادی منوکلونال مطالبی در زمینهٔ تاریخچهٔ تولید این آنتی بادیها و نیز روش تولید آنها و خبرهایی از مجامع آنتی بادی منوکلونال و همچنین خبرهایی از شرکتهای تولید کنندهٔ این آنتی بادیها می‌خوانید.

در صورتیکه سؤالات علمی در زمینه طراحی و روش تولید و موارد استفاده آنتی بادیهای منوکلونال دارید می‌توانید با تلفن و یا آدرس پست الکترونیکی ماهنامه تماس بگیرید و پاسخ خود را از متخصصان این رشته دریافت نمائید.

تاریخچهٔ آنتی بادی منوکلونال

دکتر امیر حسن زرنانی

آنتی بادیهایی که در بدن انسان یا موش ساخته می‌شوند، پلی‌کلونال (Polyclonal) هستند، بدین معنی که توسط کلون‌های مختلفی از لنفوسیت‌های B تولید می‌شوند. این آنتی بادیها از نظر ساختمانی و ویژگی (Specificity) با یکدیگر متفاوت هستند. برای کاربردهای مختلف از جمله درمان سرطان نیاز به آنتی بادیهایی وجود دارد که از یک کلون خاص تولید شده و باصطلاح منوکلونال (Monoclonal) باشند. ولی همانگونه که اشاره شد آنتی‌بادیهای تولیدی در بدن انسان یا موش از نوع پلی‌کلونال می‌باشند. از طرف دیگر حتی اگر بتوان در شرایط طبیعی، سلول تولید کننده یک آنتی بادی خاص را جدا کرده و کشت داد، این سلول به علت توانایی رشد محدود، در مدت چند روز خواهد مرد. همچنین توانایی این سلول در تولید آنتی بادی کم است. این مشکل در سال ۱۹۷۵ توسط تکنیک ابداعی سزار میلشتاین (Cesar Milstein) و جورج کهلر (Georges kohler) رفع شد.

تفکر اولیهٔ کهلر این بود که با الحاق یک سلول Myeloma (سلول سرطانی حاصل از لنفوسیت B) با لنفوسیت‌های B تولید کنندهٔ یک آنتی بادی خاص، سلولی حاصل خواهد شد که اولاً همانند سلول Myeloma دارای توانایی رشد نامحدود است و از طرف دیگر مانند لنفوسیت B اولیه، آنتی بادی با ویژگی مورد نظر را تولید خواهد نمود. آنتی بادیهایی که توسط سلول حاصل از الحاق (هیبریدوم) تولید می‌شوند، همگی دارای ساختمان، وزن مولکولی و ویژگی یکسان بوده و باصطلاح «منوکلونال» خواهند بود.

تفکر بدیع این دو دانشمند در سال ۱۹۷۵ به ثمر نشست و اولین آنتی بادی منوکلونال ساخته شد. تکنیک تولید آنتی بادی منوکلونال در مجله nature تحت عنوان:

Continuous Cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975; 256: 495-9 به چاپ رسید.

میلشتاین در سال ۱۹۲۷ در کشور آرژانتین متولد شد. وی تحصیلات عالی خود را در زمینهٔ آنزیم شناسی در دانشگاه بوینوس آیرس آغاز کرد. در سال ۱۹۵۷ موفق به اخذ درجهٔ دکترای تخصصی (PhD) از دانشگاه بوینوس آیرس شد. در سال ۱۹۵۸ به کمبریج رفت و با Malcom Dixon در دپارتمان بیوشیمی مشغول به کار شد. در سال ۱۹۶۰ دومین دکترای تخصصی (PhD) خود را از دانشگاه کمبریج دریافت نمود. در سال ۱۹۶۱ به آرژانتین بازگشت ولی پس از ۲ سال بدلیل مشکلات سیاسی مجدداً به کمبریج بازگشت و در بخش شیمی ـ پروتئین MRC (Medical Research Council) مشغول به کار شد. در این دوره بنا به توصیهٔ Fred Sanger، زمینه کاری خود را از آنزیم‌ها به آنتی بادیها تغییر داد. در ابتدای کار توجه میلشتاین بیشتر بر روی ماهیت و چگونگی ایجاد تنوع آنتی بادیها در سطح اسید آمینه و باندهای دی سولفیدی متمرکز بود. سپس توجه وی روی mRNA کد کنندهٔ آنتی بادی معطوف گشت.

علاقه و کار وی بر روی مکانیزم Somatic hypermutation به عنوان مکانیزمی برای ایجاد تنوع آنتی بادی‌ها انگیزه‌ای جهت ابداع تکنولوژی تولید آنتی بادی منوکلونال گردید.

در سال ۱۹۷۰، میلشتاین، mRNA ایمونوگلوبولین‌های تولید شده از سلول میلوم را سکانس بندی کرد. سپس با همکاری George Brownlee نحوه اتصال بین نواحی ثابت و متغیر ایمونوگلوبولین‌ها را کشف نمود.

جهت شناسایی مکانیزم Somatic hypermutation، وی به همراه David Secher و Richard Cotton، موتاسیون ایجاد شده در سلولهای میلوم را مورد بررسی قرار داد. ولی برخلاف انتظار دریافت که موتاسیون‌های ایجاد شده در ناحیهٔ متغیر آنتی بادی قرار ندارند. بدنبال آن وی به همراه همکارانش تصمیم گرفت تا دو ردهٔ میلومی تولید کنندهٔ IgG را که هر یک دارای حساسیت داروئی خاصی بودند با یکدیگر الحاق نماید سپس سلولهای هیبرید تولید شده براساس مقاومت دارویی انتخاب شدند. این سلولها قادر بودند هر دو نوع ایمونوگلوبولین مربوط به سلولهای اجدادی خود را تولید نمایند.

در این زمان جورج کهلر با ایدهٔ «غربالگری و ردیابی موتاسیون ناحیهٔ متغیر ایمونوگلوبولین‌ها با استفاده از یک آنتی‌ژن اختصاصی» جهت گذراندن دورهٔ فوق دکترا به عنوان دستیار میلشتاین مشغول به کار شد. ولی در آن زمان تنها تعداد محدودی از سلولهای میلوم که قادر به تولید آنتی بادی بودند، وجود داشت و این سلولها نیز در محیط کشت خوب رشد نمی‌کردند. این شکست سبب شد تا ایدهٔ جدیدی در ذهن کهلر و میلشتاین تداعی گردد. آنها تصمیم گرفتند که سلولهای تولید کننده آنتی بادی را با الحاق سلول میلوم با لنفوسیت‌های حیوان ایمونیزه شده با یک آنتی ژن خاص تولید نمایند. با این تکنیک، این دو دانشمند موفق به تولید سلولهایی (هیبریدوم) شدند که همانند لنفوسیت اولیه قادر به تولید آنتی بادی اختصاصی بودند و مانند میلوم مادر نامیرا بوده و مقدار زیادی آنتی بادی منوکلونال تولید می‌کردند.

بدین ترتیب تکنولوژی تولید هیبریدوم و آنتی بادی منوکلونال پا به عرصهٔ وجود نهاد. اولین آنتی بادی‌منوکلونال که توسط این دو دانشمند تولید شد SP1 نام گرفت این آنتی بادی از کلاس IgM بود و بر علیه گلبولهای قرمز گوسفند ویژگی داشت.

بدنبال آن، تکنیک هیبریدیزاسیون با همکاری Giovanni Galfre و از طریق جایگزینی ویروس Sendai با پلی اتیلن گلیکول (به عنوان ماده الحاق گر) بهبود حاصل کرد. قدرت واقعی آنتی بادی منوکلونال وقتی آشکار شد که محققین توانستند مخلوطی از آنتی ژنها نظیر سلول کامل را جهت ایمونیزاسیون و تولید آنتی بادی بر ضد پروتئین‌های سطوح سلول استفاده نمایند. تنها مرحلهٔ تخلیص مورد نیاز برای آنتی بادی منوکلونال، کلون کردن سلول هیبریدوم بود.

میلشتاین به همراه گالفری و آلن ویلیامز اولین آنتی بادی منوکلونال را بر علیه آنتی ژن CD4 لنفوسیت‌های T تولید کردند. بدنبال ابداع تکنیک FACS (Fluorescence Activated Cell Sorter) توسط Len Herzenberg و همکاری وی با میلشتاین اولین آنتی بادی منوکلونال اختصاصی بر علیه کمپلکس سازگاری نسجی Rat تولید شد. همچنین وی به همراه Andrew Mcmichael اولین آنتی بادی منوکلونال ضد CD1 را ساختند. تولید آنتی بادی منوکلونال ضد آنتی‌ژنهای سلولهای هماتوپویتیک انسان یکی دیگر از دستاوردهای تکنیک هیبریدوما بود که پس از تأیید در درمان لوسمی میلوسیتیک مزمن مورد استفاده قرار گرفت.

بنا به دلایلی، تکنیک تولید آنتی بادی منوکلونال هرگز patent نشد و مارگارت تاچر نخست وزیر وقت انگلیس که خود نیز یک شیمیدان بود در یک سخنرانی این قضیه را مورد انتقاد شدید قرار داد.

ابداع تکنیک تولید آنتی بادی منوکلونال سبب تحولی شگرف در علم پزشکی گردید. به همین سبب سزار میلشتاین و جورج کهلر جایزه نوبل پزشکی و فیزیولوژی سال ۱۹۸۴ را بخود اختصاص دادند.

آنتی بادیهای منوکلونال یکی از ارکان تکنولوژی نوین امروزی محسوب می‌شوند. امروزه از این مولکولها در تست‌های مختلف تشخیصی از جمله تست حاملگی، درمان سرطان، تولید واکسن و نیز تولید مواد بیولوژیک نظیر انترفرون‌ها، فاکتورهای رشد و هورمونها استفاده می‌شود. به تحقیق می‌توان گفت که پیشرفت‌های اخیر علوم پزشکی مرهون نوآوری دو دانشمند برجسته قرن سزار میلشتاین و جرج کهلر است. میلشتاین که پدر آنتی بادی منوکلونال لقب گرفت اخیراً در سن ۷۴ سالگی و بدنبال بیماری مزمن قلبی دار فانی را وداع گفت.

Georges kohler

Cesar Milstein

تکنیک تولید آنتی بادی منوکلونال

دکتر علی اکبر صبور یراقی

بخش اول: مقدمه و کلیات

سیستم ایمنی با روش‌های مختلف با میکروب‌ها، سلول‌ها و ملکول‌های خارجی (آنتی ژن) مقابله می‌کند. یکی از پاسخ‌های اختصاصی این سیستم در برابر آنتی ژنها، تولید آنتی بادی است. در ساختمان هر ملکول آنتی ژن، نواحی وجود دارد که توسط سیستم ایمنی شناسایی می‌شود. این نواحی اصطلاحاً اپیتوپ (epitope) نامیده می‌شوند. امروزه می‌دانیم که لنفوسیت‌های بدن ما قادرند بیش از $۱۰^{۹}$ اپیتوپ مختلف را شناسایی کنند و بطور طبیعی قبل از مواجه شدن با این اپیتوپ‌ها گیرنده‌های اختصاصی برای آنها در سطح این سلول‌ها وجود دارد. هر لنفوسیت B قادر است تنها یک نوع اپیتوپ را شناسایی کرده و تنها یک نوع آنتی بادی اختصاصی علیه این اپیتوپ بسازد. هنگامیکه یک آنتی ژن که حاوی چندین اپیتوپ است وارد بدن می‌شود با انواع مختلفی از لنفوسیت‌ها مواجه می‌شود که هر یک قادرند اپیتوپ خاصی را شناسایی کنند. لنفوسیت‌های مولد آنتی بادی اختصاصی برای هر یک از اپیتوپ‌های مربوطه با مکانیسم‌های ویژه‌ای تکثیر و تمایز پیدا کرده و یک کلون لنفوسیتی را بوجود می‌آورند. بنابراین تزریق یک آنتی ژن با اپیتوپ‌های متعدد باعث القاء تکثیر و تمایز چندین کلون لنفوسیتی و متعاقب آن تولید چندین نوع آنتی‌بادی می‌شود، به همین دلیل سرم حیوان دریافت کنندهٔ آنتی‌ژن، حاوی آنتی بادیهای پلی کلونال است. در صورتیکه بتوان یک کلون لنفوسیتی را که از یک سلول مادر تکثیر شده است جدا کرد، آنتی بادیهای تولید شده توسط این سلول‌ها فقط یک اپیتوپ معین را در ملکول آنتی ژن شناسایی خواهند کرد. به این نوع آنتی بادیها اصطلاحاً آنتی بادیهای منوکلونال گفته می‌شود. عملاً جدا کردن لنفوسیت‌های مربوط به یک کلون، کار بسیار دشواری است. از طرفی نگهداری این سلول‌ها در محیط کشت (invitro) نیز دشوار است و حداکثر یک هفته تا ۱۰ روز در شرایط مناسب و ایده آل می‌توان آنها را زنده نگهداشت.

تولید آنتی بادی منوکلونال با استفاده از تکنولوژی تولید سلول هیبریدوما اولین بار توسط دو دانشمند بنام‌های Cesar Milstein و Georges Kohler در سال ۱۹۷۵ ابداع شد. در این تکنولوژی سلول‌های مولد آنتی بادی با سلول‌های میلومایی ادغام می‌شوند. سلول‌های میلومایی در حقیقت سلول‌های نامیرا مربوط به تومور لنفوسیت‌های B تکامل نیافته یا پلاسموسیت است و هدف از ادغام سلول مولد آنتی بادی با سلول میلوما این است که یک سلول نامیرا با خاصیت تولید آنتی بادی بدست آید. بنابراین سلول هیبرید بدست آمده می‌تواند تقریباً بطور نامحدود تکثیر شده و آنتی بادی تولید کند. در صورتیکه سلول‌های هیبرید بدست آمده از یک منشاء و یک سلول واحد تکثیر شده باشند، آنتی بادی تولید شده توسط این هیبرید منوکلونال خواهد بود.

در این بخش از نشریه بطور متوالی در شماره‌های مختلف، جزئیات مراحل و روش‌های مربوط به تولید آنتی بادی منوکلونال با روش تولید سلول‌های هیبرید، تشریح خواهد شد. همچنین سایر روش‌های ایمونوشیمی که اغلب در ارتباط با تعیین مشخصات و بکارگیری این آنتی بادیها در تشخیص، درمان و تحقیقات پایه می‌باشند مورد بحث و بررسی قرار خواهند گرفت.

ذیلاً فهرست اجمالی از روش‌های لازم برای تولید سلول‌های هیبریدوما و تولید آنتی بادی منوکلونال آورده شده است که در شماره‌های آینده بتدریج با جزئیات بیشتر بحث خواهند شد.

۱- ایمونیزاسیون (Immunization)
الف) آماده سازی آنتی ژن برای تزریق
ب) روش‌های ایمونیزاسیون
۲- کشت سلولی (Cell Culture)
الف) رشد ردهٔ سلول‌های میلومایی
ب) جداسازی سلول‌های طحال از موش ایمن شده
۳- فیوژن (Fusion) یا ادغام سلولی
۴- غربالگری (Screening) سلول‌های هیبرید مولد آنتی‌بادی
۵- کلونینگ (Cloning) هیبریدهای مولد آنتی بادی
۶- نگهداری دراز مدت هیبریدها
۷- روش‌های تولید انبوه آنتی بادیها
۸- روش‌های تخلیص آنتی بادی منوکلونال
۹- تعیین مشخصات آنتی بادیهای منوکلونال
الف) تعیین ایزوتیپ
ب) تعیین ویژگی (Specificity)
ج) تعیین ثابت افینیتی (Affinity Constant)
د) تعیین اپیتوپ مورد شناسایی (Epitope Mapping)

کاربردهای بالینی آنتی بادی‌های منوکلونال

دکتر پونه دوکوهکی

در مدت زمان نسبتاً کوتاهی که از کشف نحوه تولید آنتی بادیهای منوکلونال می‌گذرد، این آنتی بادیها ارزش غیر قابل انکاری در زمینه‌های تشخیصی و اندازه گیری مواد هم در بدن موجود زنده (in-vivo) و هم در آزمایشگاه (in-vitro) و نیز در زمینه‌های درمانی یافته‌اند. قدرت آنتی بادیهای منوکلونال در شناسایی تنها یک آنتی ژن در محیطهای حاوی آنتی ژنهای متعدد می‌باشد و بدین لحاظ به جرأت می‌توان گفت که این آنتی بادیهای یکه تاز عرصه تشخیصهای ایمونولژیک و ایمنوتراپی هستند.

در این مبحث و در شماره‌های پیاپی ماهنامه سعی می‌شود تا به استفاده‌های رایج تشخیصی و درمانی آنتی بادیهای منوکلونال به اختصار پرداخته شود.

۱- استفاده‌های تشخیصی:

الف- ایمنواسی‌ها (Immunoassays)

به تستهایی که در آنها ماده‌ای در مایع تحت آزمایش با استفاده از آنتی بادیهای نشاندار شده ردیابی و یا اندازه گیری شود ایمنواسی می‌گویند. در ابتدا از آنتی بادیهای پلی کلونال در تستهای ایمونو اسی استفاده می‌شد و بنابراین قدمت این تستها به قبل از پیدایش آنتی بادیهای منوکلونال برمی‌گردد. ولی در حال حاضر در اکثر ایمنواسی‌ها از آنتی‌بادیهای منوکلونال استفاده می‌شود. آنتی بادیهای‌منوکلونال به علت داشتن خصوصیاتی چون قابلیت تولید یک آنتی بادی کاملاً یکسان در مقادیر نامحدود، اختصاصیت زیاد، قابلیت خالص سازی برای کاهش اتصال زمینه‌ای و تولید آن در پاسخ به آنتی ژن ناخالص بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. ایمنو اسی‌ها بطور کلی و بنابر نوع ماده نشاندار کننده و نوع طراحی تست از جهت شناسایی همزمان یک یا چند اپیتوپ به رادیوایمونواسی (RIA)، ایمنورادیومتریک اسی (IRMA) و الایزا Enzyme (ELISA) Linked ImmunoSorbant Assay تقسیم می‌شوند. اگر چه هنوز هم بسیاری از ایمنواسی‌ها با استفاده از آنتی‌بادیهای پلی‌کلونال صورت می‌گیرند ولی در موارد خاص بدون وجود آنتی بادیهای منوکلونال امکان طراحی تستهای تشخیصی و تحقیقاتی وجود نخواهد داشت.

می‌توان بطور عام گفت که با استفاده از آنتی بادی منوکلونال تمایل برای اتصال به آنتی ژن (Affinity) کاهش می‌یابد ولی اختصاصیت افزایش می‌یابد. اگر چه در طراحی اکثر ایمنواسی‌ها تمایل برای اتصال به آنتی ژن مهم است ولی در بسیاری از تستها از جمله تشخیص موادی که ساختمان نزدیک بهم دارند مانند یک دارو و متابولیت‌های آن و یا ایزوفرم‌های یک آنزیم، اختصاصیت آنتی‌بادی شناسایی کننده اهمیت حیاتی دارد و لذا استفاده از آنتی‌بادیهای منوکلونال در این موارد ضروری است. ایجاد آنتی بادیهای bispecific که برای دو اپیتوپ بر روی یک آنتی ژن اختصاصی هستند. باعث شده است که با افزایش تمایل اتصال و نیز اختصاصیت بالا موارد استفاده گسترده‌تری برای آنتی بادیهای منوکلونال بوجود آید. نمونه عملی این مورد، طراحی تست تشخیص آزمایشگاهی برای آمبولی ریه است که در آن استفاده از آنتی بادی منوکلونال bispecific بر علیه یکی از محصولات تجزیه فیرین (D-dimer) و نیز آنتی ژنهای سطحی RBC و اضافه کردن این آنتی بادی به خون بیمار مبتلا به آمبولی ریه در لوله آزمایش سبب تجمع گلبولهای قرمز می‌گردد و بدین ترتیب تست آزمایشگاهی مناسبی و در عین حال سریعی را می‌توان برای تشخیص سریع آمبولی ریه طراحی نمود.

به ترتیب مشابه، از آنتی بادیهای منوکلونال در ایمنواسی‌ها برای ردیابی بسیاری از هورمونها، متابولیت‌ها، تومورمارکرها، داروها و مواد مخدر و میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود.

تولیدات جدید آنتی بادی منوکلونال

۱- فرآورده‌های جدید پژوهشکده ابن سینا

در این قسمت و در هر شماره یکی از محصولات تولید شده توسط مرکز تحقیقات آنتی بادی منوکلونال و پژوهشکده ابن سینا معرفی می‌شوند.

نام فرآورده: Rabbit Anti-Human Ig peroxidase-conjugated HRP-Rb x H Ig (Mouse Ig Ads)

شماره فرآورده: SPH-505

مشخصات فرآورده:

حیوان میزبان: خرگوش

ایمونوژن: Ig انسان که از طریق کروماتوگرافی جذبی (Affinity chromatography) بدست آمد.

تخلیص آنتی بادی: ۱- آنتی بادی Rabbit Anti-Human Ig از طریق کروماتوگرافی جذبی با استفاده از Ig انسان متصل به Sepharose-4B تخلیص گردید.

۲-واکنش متقاطع آن با ایمونوگلوبولین موش از طریق کروماتوگرافی جذبی با استفاده از Ig موش متصل به Sepharose-4B حذف گردید.

کونژوگاسیون: کونژوگاسیون آنتی بادی با HRP (Horseradish peroxidase) از طریق روش پریودات با قدری تغییرات انجام گرفت.

غلظت پروتئین: ۰/۲۷ mg/ml

نسبت وزنی پروتئین به آنزیم: ۲:۱

حلال: PBS (۰/۱۵ M و pH ۷/۲) واجد BSA ۱٪ و تایمروسال ۰/۰۱٪

واکنش متقاطع با سرم حیوانات: میزان واکنش متقاطع با سرم مرغ:۲/۵٪ >، گربه: ۰/۵، اسب: ۱۰٪، رت: ۱۲/۵٪، گوسفند، ۱۲/۵٪، خوکچه هندی: ۱۲/۵ >، سگ: ۲۵٪ >، بز: ۲۵٪ >، میمون: ۱۰۰٪ و با ایمونوگلوبولین موش هیچگونه واکنش متقاطع ندارد.

موارد استفاده:

۱ - ایمونوسیتوشیمی Immuocytochemistry

۲ - ایمونوبلاتینگ Immuoblotting

۳ - الایزا Enzyme-linked Immunosorbent Assay

رقت مورد استفاده در الایزا: ۱:۱۰۰۰

رقت مورد استفاده در الایزا با استفاده از پلیت پوشیده شده با Ig تصفیه شده انسان به میزان ۱۰ µg/ml در آزمون الایزای مستقیم بدست آمد. مبنای انتخاب رقت کونژوگه ایجاد OD حداقل ۱/۵ بعد از توقف واکنش و قرائت نتایج با فیلتر ۴۹۲ نانومتر بوده است.

نحوه نگهداری: آنتی بادی را در ویالهای کوچک در -۲۰^{OC} 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.

۲- فرآورده‌های جدید شرکتهای خارجی:

شرکت AltaRex پنج نوع آنتی بادی ضد سرطان را بعنوان قدم اول در برنامه گسترش محصولات درمانی خود تولید نموده است.

اولین محصول از این گروه که مراحل نهایی تحقیقات را تقریباً پشت سر گذاشته است OvaRex ® می‌باشد این محصول یک آنتی بادی منوکلونال است که برای درمان بیماران مبتلا به سرطان پیشرفته تخمدان با تومورهای بیان کننده TAA CA125 استفاده می‌شود.

محصولات دیگری که در دست تهیه هستند شامل آنتی بادی‌های منوکلونال BrevaRex® (برای تومورهای تولید کننده Muc1)، AR54 (برای تومورهای تولید کننده TAG72)، ProstaRex™ برای تومورهای تولید کننده PSA و GivaRex™ (برای تومورهای تولید کننده CA 19.9) می‌باشند. جدول زیر خلاصه‌ای از این محصولات و تومورهای هدف را نشان می‌دهد.

تخمدان، پستان،ریه، پانکراس	OvaRex®
مولتی پل میلوما، پستان، ریه، تخمدان	BrevaRex®
تخمدان، پستان، ریه، دستگاه گوارش	AR54
پانکراس، معده، کولورکتال	GivaRex™
پروستات	ProstaRex™