

۱۴۸۵۴۷۹

آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و منوکلونال (از تولید تا کاربرد)

نگارنا نان

دکتر فاطمه رهبری زاده

دکتر غلامرضا اسدی کرم

دکتر فاطمه رحیمی جمنانی

۱۳۹۵



سرشناسه: رهبری زاده، فاطمه، ۱۳۴۹ -

عنوان و نام پدیدآور: آنتی بادی های پلی کلونال و متوکلونال: از تولید تا کاربرد/ نگارندگان فاطمه رهبری زاده، غلامرضا اسدی کرم، فاطمه رحیمی جمنانی.

مشخصات نشر: تهران: دانشگاه تربیت مدرس، مرکز نشر آثار علمی، ۱۳۹۵.

مشخصات ظاهری: ۲۵۴ص: مصور(رنگی)، جدول.

فروست: دانشگاه تربیت مدرس؛ شماره انتشار ۱۹۹/۳۱.

شابک: 978-600-7589-27-4

وضعیت فهرست نویسی: فیا

یادداشت: کتابنامه

موضوع: پادتن ها

موضوع: Immunoglobulins

موضوع: پادتن های تک کلنی

موضوع: Monoclonal antibodies

موضوع: ایمنی شناسی مولکولی

موضوع: Molecular immunology

شناسه افزوده: اسدی کرم، غلامرضا، ۱۳۴۵ -

شناسه افزوده: رحیمی جمنانی، فاطمه، ۱۳۶۰ -

شناسه افزوده: دانشگاه تربیت مدرس، مرکز نشر آثار علمی

Tarbiat Modares University, TMU Press

ر بهندی کنگره: ۱۳۹۵ ۲/۹/۱۸۶/۷ QR

بهندی دیویی: ۶۱۶/۰۷۹

ره کتابشناسی ملی: ۴۲۷۵۶۶۰

آنتی بادی های پلی کلونال (از تولید تا کاربرد)

نگارندگان: دکتر فاطمه رهبری زاده، دکتر غلامرضا اسدی کرم، دکتر فاطمه رحیمی جمنانی

ویراستر ادبی و فنی: طراح جلد: دکتر سید

طراح جلد: دکتر سید

صفحه آرا: سمیه زهانی

ناشر: مرکز نشر آثار علمی

شماره انتشار: ۹/۳۱

شماره پیاپی: ۲۲۹

تاریخ انتشار: ۱۳۹۵

شمارگان: ۱۰۰۰

ISBN: 978-600-7589-27-4

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۷۵۸۹-۲۷-۴

نویت چاپ: اول

کارشناس اجرایی: فاطمه طالبی

ناظر چاپ: مصطفی جانجانی

لیتوگرافی: ایران گرافیک

چاپ و صحافی: قشقایی

مرکز پخش: تقاطع بزرگراه های آلااحمد و دکتر چمران،

دانشگاه تربیت مدرس، مرکز نشر آثار علمی، صندوق پستی: ۱۴۱۱۵-۳۱۸

دورنگار: ۸۲۸۸۳۰۳۲

تلفن: ۸۲۸۸۳۰۹۶

بها: ۱۶۰۰۰۰ ریال

صحت مطالب کتاب بر عهده نگارندگان است.

فهرست مطالب

پیشگفتار.....	ط
فصل ۱- آنتی بادی های پلی کلونال.....	۱
تعریف واژه ها.....	۱
مقدمه.....	۵
ایمونوگلوبولین ها.....	۶
نواحی ایمونوگلوبولین.....	۸
الف- دومین.....	۸
ب- ناحیه لولا.....	۱۰
ج- نواحی متغیر و نواحی بسیار متغیر.....	۱۲
زیرکلاس های ایمونوگلوبولین ها (انواع ایمونوگلوبولین).....	۱۳
IgG.....	۱۳
IgM.....	۱۴
IgA.....	۱۵
IgE.....	۱۶
IgD.....	۱۶
خواص الکتروفورزی ایمونوگلوبین ها.....	۱۶
تولید آنتی بادی پلی کلونال.....	۱۷
انتخاب حیوان.....	۱۹

ب آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و مونوکلونال (از تولید تا کاربرد)

- ۲۱..... روش‌های متداول ایمونیزاسیون
- ۲۳..... یاری‌دهندگان
- ۲۷..... تزریق آنتی‌ژن به حیوان آزمایشگاهی
- ۲۸..... خون‌گیری از حیوان آزمایشگاهی
- ۲۹..... تعیین تیتر آنتی‌بادی
- ۲۹..... روش کار (آزمون رادیوایمنوآسی)
- ۳۰..... تعیین میزان واکنش ناخواسته
- ۳۱..... آنالیز اسکالارد چارد
- ۳۲..... تهیه قطعات آنتی‌بادی
- ۳۳..... الف - هضم ایمونوگلوبولین‌ها برای تهیه قطعه Fab با استفاده از پاپاین
- ۳۴..... ب - هضم ایمونوگلوبولین‌ها با $F(ab)_2$ با استفاده از پپسین
- ۳۴..... ذخیره‌سازی آنتی‌بادی‌ها
- ۳۶..... آنتی‌ژن و ایمونوژن
- ۳۷..... آنچه در مورد آنتی‌ژن‌ها باید بدانیم
- ۳۸..... الف - اندازه مولکولی
- ۳۸..... ب - ماهیت ساختار
- ۳۹..... ج - بیگانگی
- ۴۰..... د - پایداری ساختاری
- ۴۰..... ه - انهدام‌پذیری
- ۴۰..... کنزوگه کردن هاپتن‌ها
- ۴۱..... انواع حامل‌ها
- ۴۳..... اتصال هاپتن به پروتئین‌ها
- ۴۵..... گروه‌های عامل فعال در اتصال مولکول‌های هاپتن به پروتئینی
- ۴۵..... الف - آمین‌ها
- ۴۶..... ب - تیول‌ها
- ۴۷..... ج - کربوهیدرات‌ها

فهرست مطالب ج

روش های اتصال هاپتن پروتئین.....	۴۸
الف- استفاده از کربودیامید.....	۴۸
ب- روش گلو تار آلدهید.....	۴۹
ج- روش بیس مالیمید.....	۵۰
د- روش هایی که از گروه های عاملی متفاوت استفاده می شود.....	۵۱
اتصال پروتئین پروتئین.....	۵۲
گروه های عاملی فعال در متصل کردن پروتئین ها.....	۵۲
الف- آمین.....	۵۲
ب- تیول.....	۵۴
ج- کربوهیدرات ها.....	۵۴
د- سایر گروه ها.....	۵۵
روش های اتصال پروتئین - پررئین.....	۵۶
الف- روش پری دات.....	۵۸
ب- روش گلو تار آلدهید.....	۶۰
ج- روش بیس - مالیمید.....	۶۱
د- روش های مالیمید - تیول هتروبی فانکشنال و راه های وابسته.....	۶۱
اساس سنجش های ایمنی.....	۶۳
طراحی سنجش.....	۶۴
آشکال سنجش.....	۶۵
روش تعیین غلظت مطلوب آنتی بادی ها.....	۶۶
نشانه های مورد استفاده در سنجش های ایمنولوژیکی.....	۶۷
تهیه استاندارد یا کالیرانت.....	۶۸
معرف های عمومی در سنجش های ایمنی.....	۷۰
انتخاب محیط زمینه (ماتریکس).....	۷۱
حذف آنالیت های درون سرم با استفاده از ستون ذغال فعال یا ستون سلولز.....	۷۲
شرایط واکنش و غلظت معرف های مناسب در آزمون های ایمنی.....	۷۴

د آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و مونوکلونال (از تولید تا کاربرد)

۷۶	 معتبرسازی سنجش
۷۷	 الف - دقت در درون سنجش و بین سنجش
۷۸	 ب - Drift
۷۹	 ج - مقایسه با روش استاندارد
۷۹	 د - بازیابی و آزمایش‌های رقیق‌سازی
۷۹	 ه - فاکتورهای مداخله‌کننده در سنجش‌های ایمنی
۸۱	 کاربرد آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال در درمان
۸۴	 آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال نو ترکیب اختصاصی آنتی‌ژن
۸۷	 فرآورده‌های درمانی پلی‌کلونال
۸۹	 کاربردهای درمانی آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال
۹۰	 آینده مواد درمانی پلی‌کلونال
۹۳	 فصل ۲ - آنتی‌بادی‌های مرکب
۹۳	 تعریف واژه‌ها
۹۴	 مقدمه
۹۵	 اصول کلی تولید آنتی‌بادی مونوکلونال
۹۵	 آماده‌سازی لئوسیت‌های ایمن
۹۷	 تهیه سلول میلوما
۱۰۲	 انتخاب سلول‌های میلوما برای پیوند سلولی
۱۰۳	 انواع سلول‌های میلوما
۱۰۶	 ادغام یا امتزاج سلولی
۱۰۶	 الف - ادغام با ویروس سندایی
۱۰۷	 ب - پلی‌اتیلن گلاایکول
۱۰۸	 ج - امتزاج الکتریکی سلول‌ها
۱۰۸	 د - پیوند سلولی به وسیله میدان الکتروآکوستیک
۱۰۹	 ه - امتزاج به کمک لیزولستین

محیط انتخابی.....	۱۰۹
الف- آژاسرین.....	۱۰۹
ب- آنالوگ‌های فولات.....	۱۰۹
سلول‌های تغذیه‌ای.....	۱۱۰
الف- سلول‌های تغذیه‌ای طحال موش.....	۱۱۱
ب- ماکروفاژهای صفاقی.....	۱۱۱
ج- سلول‌های تغذیه‌ای تیموسیت‌های موش.....	۱۱۲
روش‌های غربالگری.....	۱۱۲
کلون کردن سلول‌ها.....	۱۱۳
الف- استفاده از آگ نیمه جامد.....	۱۱۳
ب- رقیق‌سازی متوالی یا آزمون وقف محدود.....	۱۱۴
ج- FACS (جداسازی سلول‌ها نشانه‌دار شده با فلورسنت).....	۱۱۴
نگهداری سلول‌ها به صورت منجمد.....	۱۱۵
روش‌های تولید انبوه آنتی‌بادی منوکلونال.....	۱۱۵
الف- تکثیر کلونی‌ها در آزمایشگاه (<i>in vitro</i>).....	۱۱۵
ب- تزریق داخل صفاق موش جهت تولید مایع آسیت (<i>in vivo</i>).....	۱۱۷
تعیین خصوصیات آنتی‌بادی منوکلونال.....	۱۱۸
تخلیص.....	۱۱۹
انواع روش‌های تخلیص آنتی‌بادی منوکلونال.....	۱۱۹
الف- ایجاد رسوب با سولفات آمونیوم یا اسید کاپریلیک.....	۱۲۰
ب- تخلیص با کروماتوگرافی تعویض یون.....	۱۲۱
ج- تخلیص با کروماتوگرافی تمایلی به وسیله پروتئین A یا G.....	۱۲۱
د- تخلیص با ایمونوافینیتری کروماتوگرافی.....	۱۲۲
نگهداری سلول‌ها به صورت منجمد.....	۱۲۲
کاربردهای آنتی‌بادی منوکلونال.....	۱۲۲
الف- به‌کارگیری در تخلیص.....	۱۲۲

ب- کاربرد تشخیصی.....	۱۲۳
ج- کاربرد درمانی.....	۱۲۳
د- تهیه واکسن.....	۱۲۴
ه- دیگر کاربردها.....	۱۲۴
انواع آنتی‌بادی‌های مونوکلونال.....	۱۲۴
الف- آنتی‌بادی‌های مونوکلونال موشی.....	۱۲۵
ب- آنتی‌بادی‌های مونوکلونال انسانی.....	۱۲۵
ج- تولید هیبریدوم‌های پایدار بین گونه‌ای موش - گاو.....	۱۲۵
د- تولید آنتی‌بادی‌های مونوکلونال در اسبها.....	۱۲۷
ه- تولید آنتی‌بادی‌های مونوکلونال در سایر چونندگان.....	۱۲۷
روش‌های دیگر تولید آنتی‌بادی‌های مونوکلونال.....	۱۲۷
۱- مطالعات ترانسفرمه کران با استفاده از ویروس اپشتین بار به منظور نامیرا کردن لنفوسیت‌ها.....	۱۲۸
۲- ایمن کردن لنفوسیت‌های انسانی در آزمایشگاه (in vitro).....	۱۲۹
۳- فناوری هیبریدوم‌های انسانی.....	۱۳۰
۴- فناوری nu- PBL- SCID - mice.....	۱۳۰
۵- لنفوسیت‌های T کمکی $CD57^{+}$ در خون محیطی و است‌های لنفوئیدی ثانویه.....	۱۳۰
۶- تولید آنتی‌بادی مونوکلونال انسانی به وسیله هترو هیبریدوما - هیبریدوما.....	۱۳۱
تولید آنبوه آنتی‌بادی مونوکلونال: <i>in vivo</i> و <i>in vitro</i>	۱۳۳
مزایای روش‌های <i>in vitro</i>	۱۳۴
معایب روش‌های <i>in vitro</i>	۱۳۴
مزایای روش <i>in vivo</i>	۱۳۵
معایب روش <i>in vivo</i>	۱۳۶
کشت آنبوه سلول‌های هیبریدوما.....	۱۳۶
هزینه‌های افزایش مقیاس کشت سلولی.....	۱۳۷
عوامل مؤثر بر کشت آنبوه.....	۱۳۸
الف- محیط کشت سلولی.....	۱۳۹

فهرست مطالب ز

۱۴۰	ب- نقش سرم در محیط کشت سلولی
۱۴۲	ج- تغییرات pH محیط
۱۴۴	د- فشار اکسیژن
۱۴۵	ه- پتانسیل احیا
۱۴۶	راهکارها و روش های تولید انبوه آنتی بادی های مونوکلونال
۱۴۶	الف- راهکارهای تولید انبوه در سیستم <i>in vivo</i>
۱۴۷	۱- حیوان آزمون یشگامی
۱۴۷	۲- آماده سازی - ران
۱۴۸	۳- تأیید عملکرد تولید ترشح رده هیبریدوما
۱۴۸	۴- جمع آوری مایع سیت
۱۴۹	ب- راهکارهای تولید انبوه در سیستم <i>in vitro</i>
۱۵۱	انواع کشت انبوه در <i>in vitro</i>
۱۵۱	۱- کشت به روش سری
۱۵۲	۲- کشت غیرمداوم توأم با گذارسانی
۱۵۲	۳- کشت به روش گذارسانی مداوم
۱۵۲	۴- کشت با جریان مداوم
۱۵۲	فناوری بیوراکتور
۱۵۳	سیستم های به دام اندازنده سلول ها
۱۵۳	الف- الیاف
۱۵۴	ب- محفظه های سرامیکی
۱۵۵	ج- بسترهای متخلخل
۱۵۶	انواع بیوراکتورها
۱۵۶	الف- انواع بیوراکتورهای کشت سلول های چسبنده
۱۵۷	ب- انواع بیوراکتورهای کشت سلول های معلق
۱۵۷	۱- کشت های معلق ساکن
۱۵۸	۲- کشت های معلق متحرک

ح آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و مونوکلونال (از تولید تا کاربرد)

۱۶۱	۳- کشت‌های معلق با سیستم نگهداری و تثبیت سلول‌ها
۱۶۵	فرایند بیوراکتوری
۱۶۶	الف- درصد بیان
۱۶۷	ب- درجه خلوص
۱۶۷	ج- بازده تخلیص
۱۶۸	د- بازده فرایند
۱۶۸	پیش‌پالایش
۱۶۹	الف- جداسازی سارل‌ها
۱۶۹	ب- کاس - جـم
۱۷۰	عملیات پالایش
۱۷۲	تعیین کمیت و فعالیت
۱۷۲	ذخیره‌سازی و نگهداری
۱۷۲	مزایا و معایب
۱۸۰	کاربردهای آنتی‌بادی‌های مونوکلونال
۱۸۱	پیشینه‌ای کوتاه از آنتی‌بادی‌های کنژوگه
۱۸۴	آنتی‌بادی‌های متصل شده (کنژوگه) به عوامل درمان
۱۸۵	الف- آنتی‌بادی‌های کنژوگه به دارو (کنژوگه‌های آنتی‌بادی-دارو)
۱۸۸	ب- رادیوایمونوکنژوگه‌ها
۱۹۰	ج- آنتی‌بادی‌های کنژوگه به توکسین - ایمونوتوکسین‌ها
۱۹۴	مروری بر آنتی‌بادی‌های مونوکلونال درمانی موجود در بازار دارویی دنیا
۱۹۹	آنتی‌بادی‌های مونوکلونال درمانی در حال بررسی در فازهای مختلف از کارآزمایی‌های بالینی
۲۰۳	فهرست منابع
۲۱۹	واژه‌نامه فارسی به انگلیسی
۲۲۵	واژه‌نامه انگلیسی به فارسی
۲۳۱	نمایه

پیشگفتار

پیشرفت‌های علوم مولکولی و علوم سلولی و زیستی در سه دهه اخیر به‌طور قابل توجهی افق‌های دید ما را گسترده کرده است. مولکول‌های آنتی‌بادی به‌عنوان یکی از با ارزش‌ترین و پرکاربردترین ابزارهای علم بیولوژی نه تنها به‌عنوان یک عامل شناساگر مولکولی به‌کار می‌رود، بلکه به‌عنوان یک ابزار تشخیصی و درمانی مؤثر به‌کار می‌روند.

در طی سال‌های گذشته در کلاس‌های درس و یا برخورد با دانشجویان و یا علاقه‌مندان علوم زیستی مرتبط، بارها درباره کتابی به زبان فارسی در موضوع آنتی‌بادی، که در مورد تولید، کاربرد و در مجموع هر آنچه به آنتی‌بادی مربوط می‌شود، مورد سؤال قرار گرفته‌ایم و همیشه این کاستی در مجموعه کتاب‌های علمی و درسی فارسی زبان حس می‌شد. کتاب پیش‌رو همه مسائل در عرصه آنتی‌بادی را با زبانی شیوا و به‌طور کامل توضیح می‌دهد و روش‌های تولید و موارد کاربرد آنتی‌بادی‌ها را تشریح کرده است. اگرچه روش‌های اصلی تولید انواع آنتی‌بادی‌ها تغییر زیادی نکرده است، ولی در این کتاب سعی کردیم که همه این مطالب را در مجموعه دو جلدی جمع‌آوری و به روزرسانی کنیم. این کتاب برای محققان علوم زیستی و نیز دانشجویان کارشناسی ارشد (M.Sc.) و دکتری حرفه‌ای و نیز تخصصی (Ph.D.) که به تولید و کاربرد مولکول آنتی‌بادی علاقه‌مند هستند، مفید و قابل استفاده است. نگارش این کتاب به نحوی است که هم برای محققان تازه‌کار و هم برای سروران با تجربه کاربرد دارد. در اغلب موارد سعی شده است که با

توضیحات جامع و کامل راجع به موضوع بحث و بررسی انجام شود. البته پیشاپیش متذکر می‌شود که امکان ارائه تمام روش‌ها در این کتاب‌ها غیر ممکن بود، ولی تلاش شد که روش‌های مفید این عرضه تبیین شود. ذکر منابع اصلی در اغلب روش‌ها مشکل بود، زیرا بعضی از آنها تغییر داده و اصلاح و بعضی نیز برگرفته از تجربیات شخصی نگارندگان است. در متن کتاب تلاش شده که از لغات متداول فارسی استفاده شود به‌طوری‌که قابلیت درک صحیح موضوع خدشه‌دار نشود، اما در مواردی که لغت انگلیسی متداول‌تر بوده، به‌ناچار از لغات انگلیسی استفاده شده است. منابع در پایان هر فصل ذکر شده که شامل کتاب و مقاله است.

پس از جمع‌آوری تمام مطالب به‌نظر می‌رسید که بهترین روش دسته‌بندی و تقسیم مجموعه به دو کتاب باشد. کتاب اول با عنوان آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و مونوکلونال (از تولید تا کاربرد). شامل دو فصل جداگانه است؛ فصل اول، آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و فصل دوم، آنتی‌بادی‌های مونوکلونال. همچنین مباحث مربوط به تولید آزمایشگاهی، تولید انبوه و کاربردهای انواع آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و مونوکلونال در انتهای کتاب ذکر شده است.

کتاب دوم با عنوان آنتی‌بادی‌های نوترکیب (از تولید تا کاربرد)، است که در آن انواع آنتی‌بادی‌های نوترکیب در جانوران و گیاهان، شامل تعاریف، روش‌های تولید و نیز کاربرد آنها ذکر شده است.

در پایان از هرگونه کاستی در کتاب عذرخواهی می‌نمایم و برای همه همکاران، دانش‌پژوهان و دانشجویان کشور عزیزمان ایران از خداوند متعال تسلیت و تسکین و توفیق روزافزون دارم.

فاطمه رهبری‌زاده

عضو هیأت علمی گروه بیوتکنولوژی پزشکی

دانشگاه تربیت مدرس