



АХМЕТ ЯСАУИ  
УНИВЕРСИТЕТИ

Факультет медицины

Кафедра

# СРС

*Моноклональные антитела. Гибридомная технология.  
Основные области применения МКАТ в иммунологии.*

**Выполнил:** Баимбетов А.А

СТР – 247

**Принял:**

Туркестан 2017 г.



# СОДЕРЖАНИЕ

- I. Введение
- II. Основная часть
  - Структура антител
  - Понятие о МКАТ
  - Получение МКАТ
  - Гибридомная технология
  - Применение МКАТ в иммунологии
- III. Заключение
  - Список литературы





# ВВЕДЕНИЕ

Получение антител для нужд человека начинается с иммунизации животных. После нескольких инъекций антигена в присутствии стимуляторов иммунного ответа в сыворотке крови накапливаются специфические антитела. Такие сыворотки называются иммунные. Антитела выделяют из сыворотки в виде  $\gamma$ -глобулиновой фракции, осаждая их из сыворотки крови сульфатом аммония, спиртом, ПЭГ и другими веществами. Самое главное, полученные антитела содержат много антител с различной специфичностью, ко многим антигенным детерминантам, как антигена, которым проводилась иммунизация, так и другим антигенам, с которыми встречалось животное-донор.





## Список сокращений

Ig – иммуноглобулин

IgG, IgA, IgM, IgE, IgE - классы сывороточных иммуноглобулинов

АГ – антиген

АОК – антитело образующие клетки

АТ – антитело

ГАТ - культуральная среда, содержащая гипоксантин - аминоптерин - тимидин

МкАТ (мАТ) (англ. mab) – моноклональные антитела

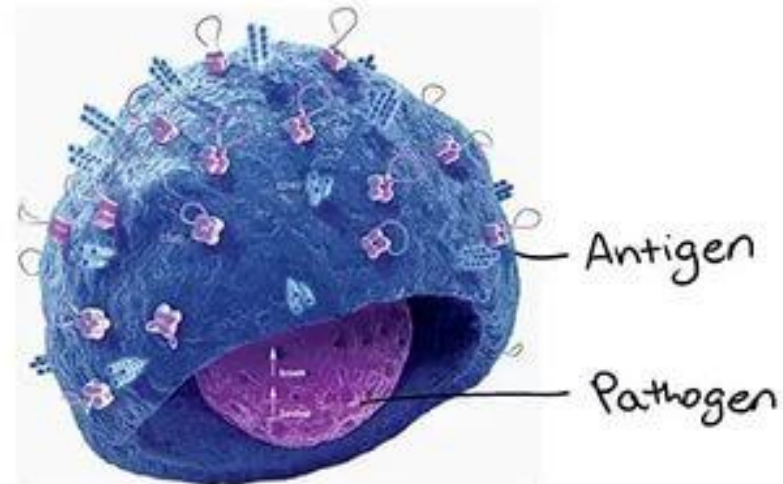
ПЭГ - полиэтиленгликоль





# Структура антител

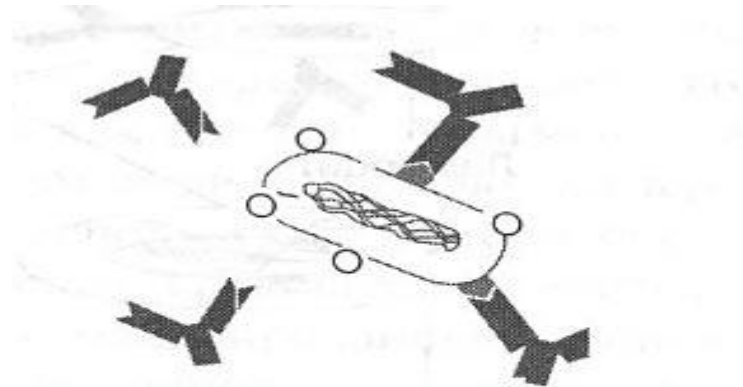
При введении в организм животных и человека чужеродных макромолекулярных веществ — белков или полисахаридов (антигенов) в крови появляются защитные белки - антитела, для которых характерна уникальная специфичность. Каждое антитело узнает только свой антиген, - точнее, одну его детерминантную группу. Детерминантная группа состоит из нескольких аминокислот (обычно из 6—8), образующих пространственную структуру, характерную для данного белка.





# Моноклональные антитела

*Моноклональные антитела* - это иммуноглобулины, синтезируемые одним клоном клеток. Антитела синтезируются в организме как проявление защитной реакции при попадании в него чужеродного вещества (антигена). Моноклональное антитело связывается только с одной антигенной детерминантой на молекуле антигена



Моноклональные антитела





## ИССЛЕДОВАНИЕ

Решение проблемы было предложено в 1975 году учеными Георгом Кёлером и Цезарем Мильштейном. Они разработали методику получения клеточных гибридов - гибридом. Гибридомы (гибридные опухолевые клетки) образуются в результате слияния лимфоцитов, взятых от иммунизированных животных, с клетками миеломы костного мозга, культивируемыми *in vitro*.



**Георг Кёлер**  
(George Kohler)



**Цезарь Мильштейн**  
(Cesar Milstein)



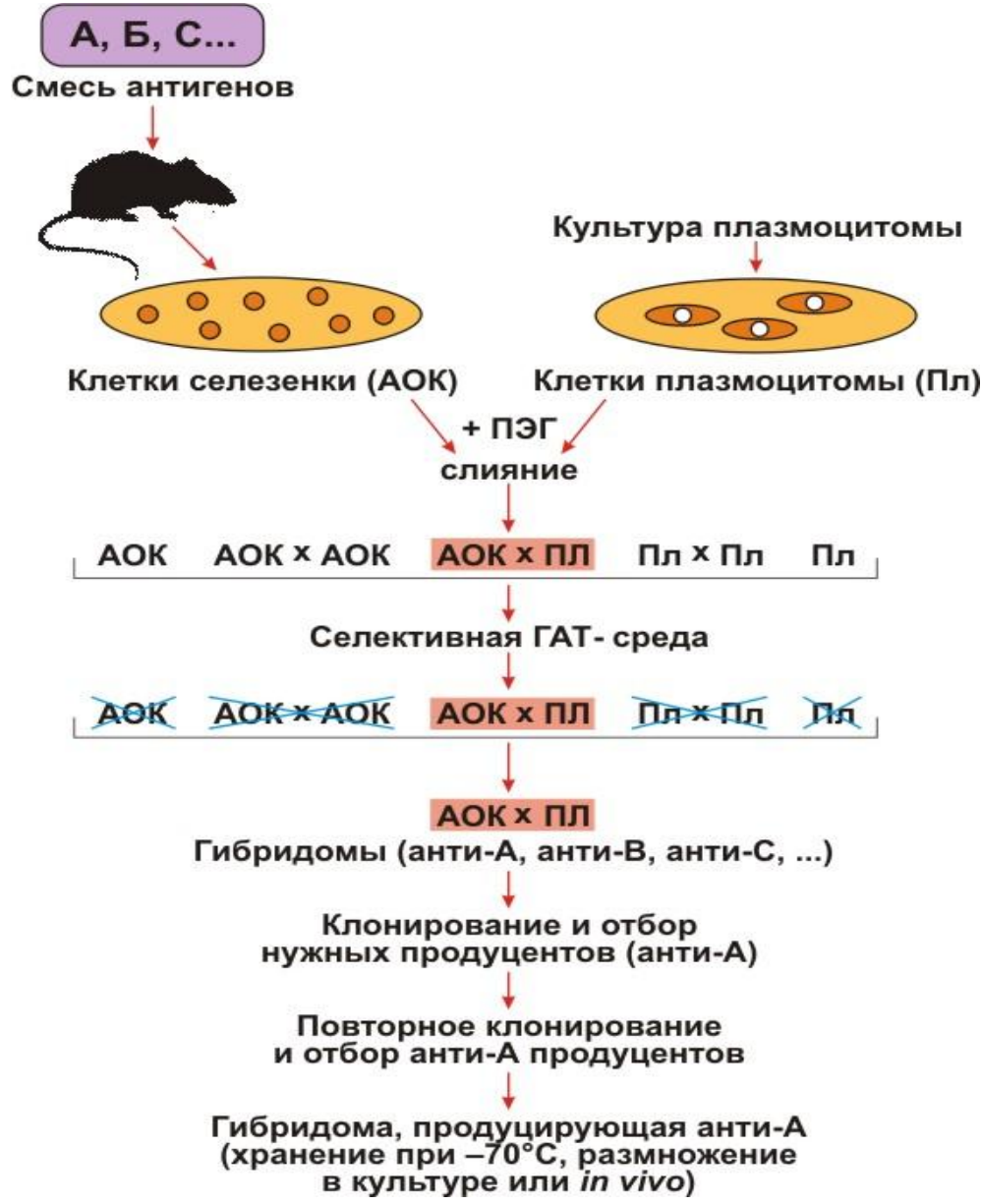


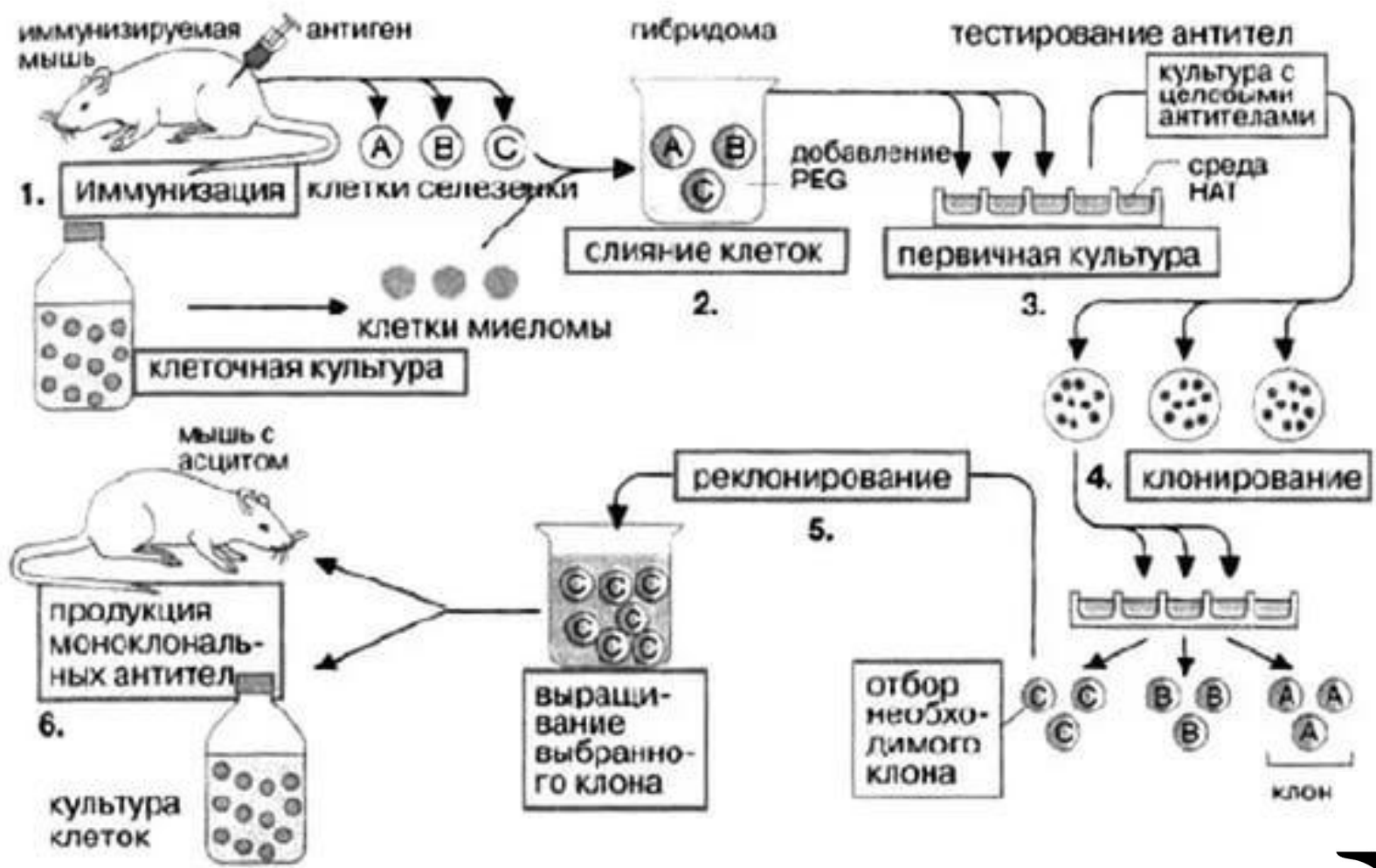
## СХЕМА ПОЛУЧЕНИЯ ГИБРИДОМ

Если к суспензии В-лимфоцитов добавить клетки плазмоцитомы и полиэтиленгликоль, то после инкубации, требующейся для слияния клеток, в системе находились следующие клетки: - гибриды АОК и АОК (В-лимфоцитов и В-лимфоцитов), - гибриды АОК и плазмоцитомы, а также оставшиеся свободными - АОК и клетки плазмоцитомы (не слившиеся). Проблема заключалась в том, как отделить заданную гибридому от присутствующих в системе отдельных не слившихся клеток и от гибридов иной специфичности. Для достижения этой цели авторы разработали специальную схему, использующую отбор клеток в селективной питательной среде.











## Иммуноферментный анализ

Иммуноферментный анализ (сокращённо ИФА, англ. enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) - лабораторный иммунологический метод качественного определения и количественного измерения антигенов и антител. В основе ИФА лежит принцип специфического взаимодействия между антигеном и соответствующим ему моноклональным антителом. Выявление образовавшегося комплекса проводят с использованием так называемого конъюгата, который представляет собой анти-антитело, соединённое с ферментной меткой (обычно используют пероксидазу хрена).





## ОТЛИЧИЕ

В отличие от поликлональных гетерогенных сывороток, содержащих большое разнообразие антител, отличающихся своей специфичностью, аффинитетом и физико-химическими свойствами, препараты моноклональных антител содержат продукт единственного клона плазматических клеток, направленный к строго определенной антигенной детерминанте и обладающий всегда одинаковыми физико-химическими характеристиками и сродством к антигену. Гибридомы сыграли и продолжают играть огромную роль в фундаментальной и прикладной иммунологии.

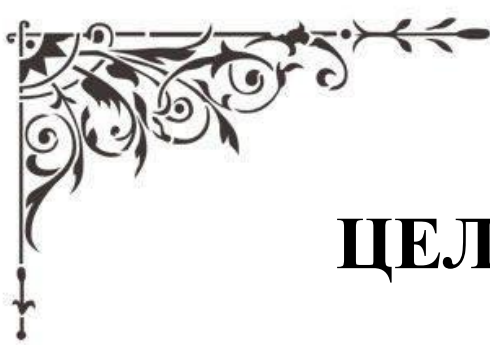




## Области применения моноклональных антител:

- идентификация субпопуляций лимфоцитов человека
- истощение клеточных популяций
- выделение клеток
- установление функций молекул клеточной поверхности
- определение группы крови
- диагностика опухолей и локализация опухолей
- иммунорадиометрический анализ
- анализ сложных смесей антигенов
- анализ эмбрионального развития
- квадromы
- анализ иммунного ответа
- искусственные ферменты





## ЦЕЛИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МКАТ

- для идентификации клеток - выявления Т- и В-лимфоцитов и других клеток, определения их свойств;
- для осуществления современных радиоиммунных, иммуноферментных и иммунолюминесцентных методов выявления антигенов и антител;
- для определения локализации антигенов в организме и доставки к ним (например, в опухоль) лекарственных веществ, присоединенных к антителам;
- для приготовления иммуносорбентов, позволяющих выделить или удалить из организма антигены или клетки данной специфичности.





# Терапевтическое применение

Терапевтическое применение моноклональных антител, которые являлись мышинными антителами, было ограничено. Их введение человеку сопровождалось иммунным ответом на чужой (гетерогенный) мышинный белок. Это приводило к быстрому устранению желаемого терапевтического эффекта, а так же поражению почек и гиперчувствительности к чужеродному мышинному белку.





# Ритуксимаб



Ритуксимаб (Ритуксан, Мабтера) представляет собой химерные моноклональные антитела мыши/человека специфически связывающиеся с CD20+ антигеном. Этот антиген локализуется на поверхности пре-В-лимфоцитов и зрелых В-лимфоцитов, но отсутствует на стволовых гемопоэтических клетках, нормальных плазматических клетках и здоровых клетках других тканей.







# Алемтузумаб



Алемтузумаб (Кампат, Кэмпас, Campath) – гуманизированное МКА, связывающееся с CD52. Антиген CD52 экспрессируется на мембране большинства зрелых нормальных и опухолевых Т- и В-лимфоцитов с очень высокой плотностью — примерно 500 000 молекул на клетку (по сравнению с антигеном CD20, плотность экспрессии которого составляет около 8000 молекул на клетку).





## Заключение

Новое поколение МкАТ-технологий, объединяют в себе преимущества МкАТ и низкомолекулярных препаратов, обладающих высокой специфичностью и низкой токсичностью, возможностью воздействовать на объекты, нераспознаваемые современными МкАТ, в том числе на активные центры ферментов и рецепторов. Такие МкАТ обладают более высокой стабильностью, что допускает возможность их перорального, ингаляционного или местного применения





## ЛИТЕРАТУРА

1. Кеннет Р.Г., Мак-Керн Т.Дж., Бехтол К.Б. Моноклональные антитела: Гибридомы: новый уровень логического анализа. М.: Медицина, 1983.
2. Роит А. Основы иммунологии. М.: Мир, 1991.
3. А.Ю. Барышников, Е.Р. Полосухина. Моноклональные тела в онкологии.
4. Г.И. Абелев. Моноклональные антитела.

