



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 γ -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

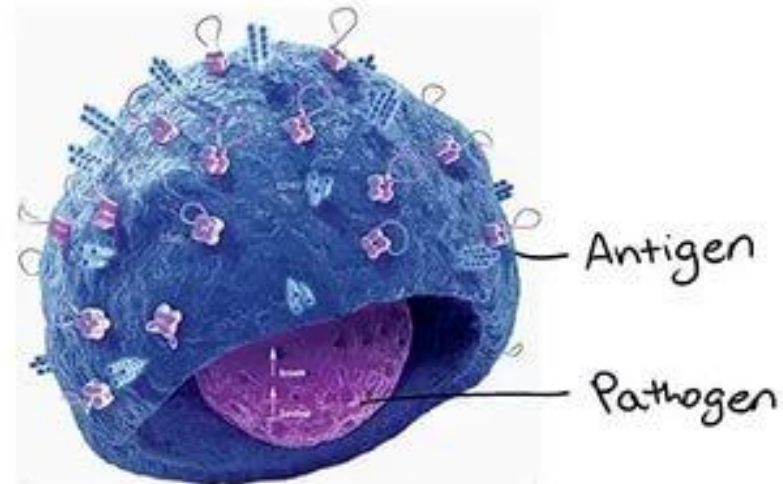
ПЭГ - полиэтиленгликоль





Структура антител

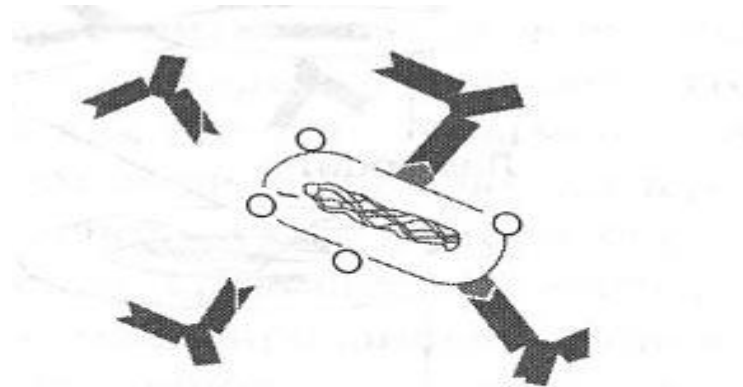
При введении в организм животных и человека чужеродных макромолекулярных веществ — белков или полисахаридов (антигенов) в крови появляются защитные белки - антитела, для которых характерна уникальная специфичность. Каждое антитело узнает только свой антиген, - точнее, одну его детерминантную группу. 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)

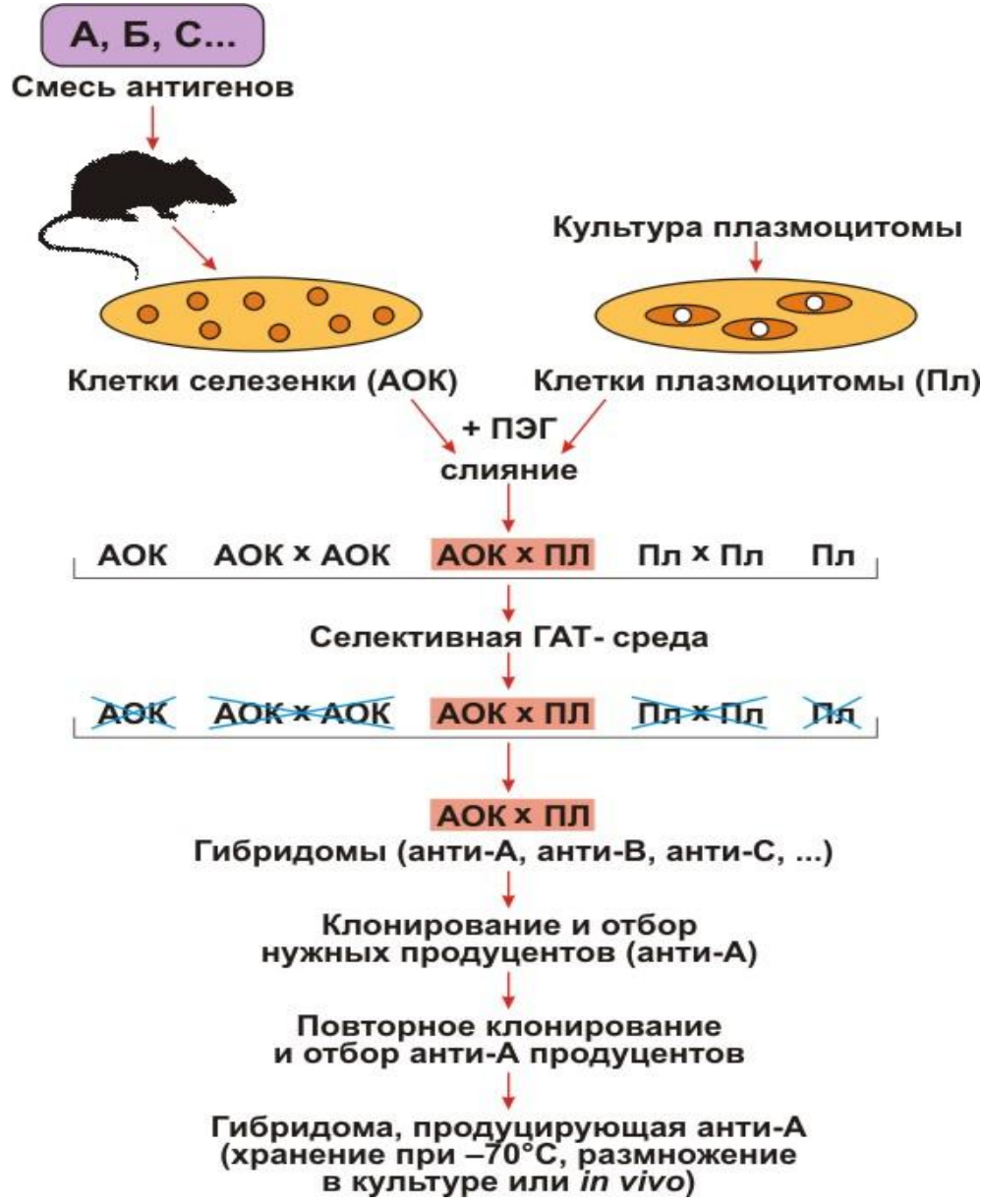


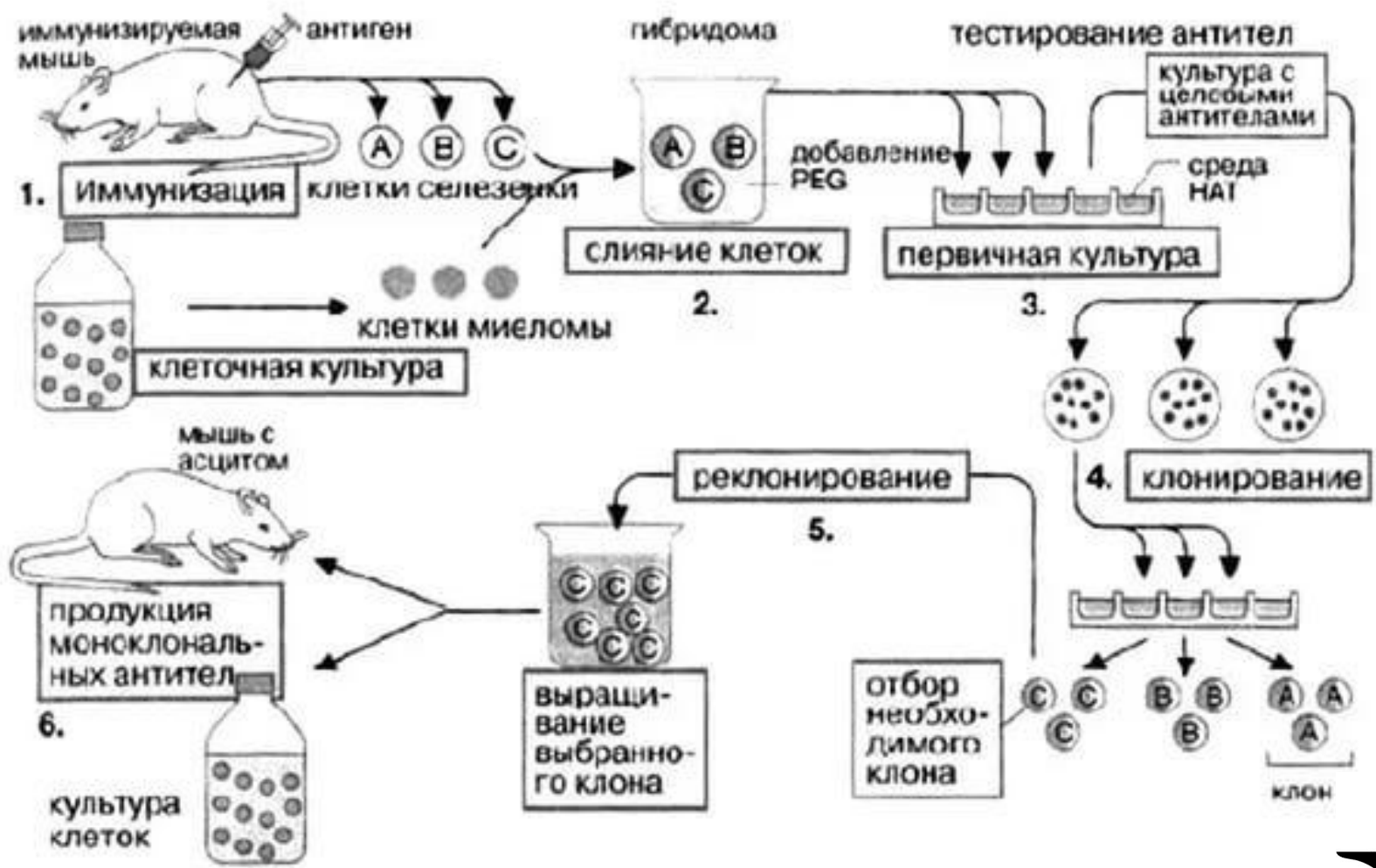


СХЕМА ПОЛУЧЕНИЯ ГИБРИДОМ

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.

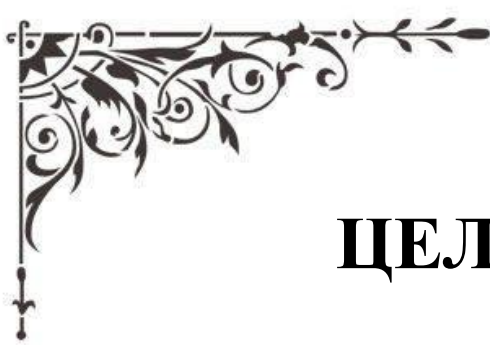




Области применения моноклональных антител:

- 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.

