

М.ОСПАНОВ АТЫНДАҒЫ БАТЫС ҚАЗАҚСТАН
МЕМЛЕКЕТТІК МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ

ПРЕЗЕНТАЦИЯ

**ТАҚЫРЫБЫ: МОНОКЛОНДЫ АНТИДЕНЕЛЕР.
ГИБРИДИОНДЫ ТЕХНОЛОГИЯЛАР. МОНОКЛОНДЫ
АНТИДЕНЕЛЕРДІҢ ИММУНОЛОГИЯДАҒЫ НЕГІЗГІ
ҚОЛДАНУ АЙМАҚТАРЫ.**

Орындаған: Есіркеп А.Ф.
Тобы: 202Б ЖМ
Тексерген: Ажмуратова М.А.

ЖОСПАР

I.Кіріспе

II.Негізгі бөлім

2.1.Моноклонды антиденелер туралы түсінік,тарихы,алу мақсаты мен клиникалық маңызы

2.2.Гибридомды технология,оларды алу және этаптары.

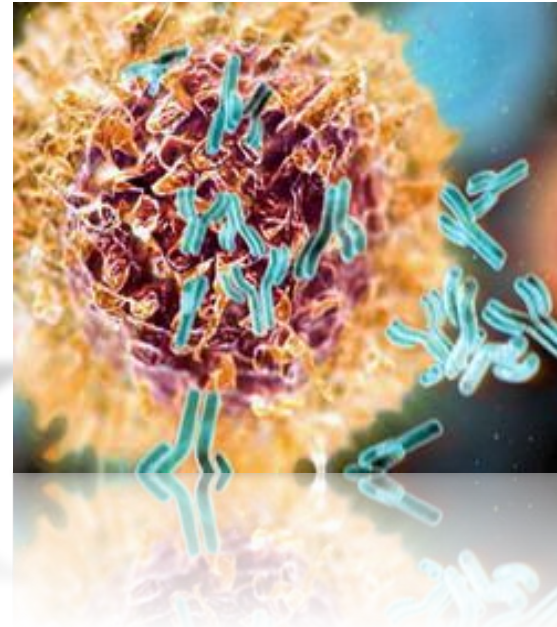
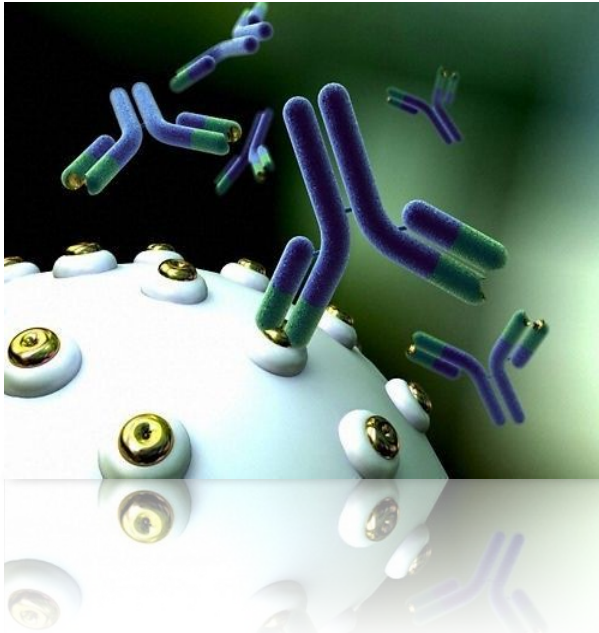
2.2.Жұмысты ұйымдастыру:қолданылатын құрал-жабдықтар.

2.3.МКАД қолданылуы.

2.4.Гибридома.Гибридома неге шексіз пролиферацияланады?

III.Қорытынды.

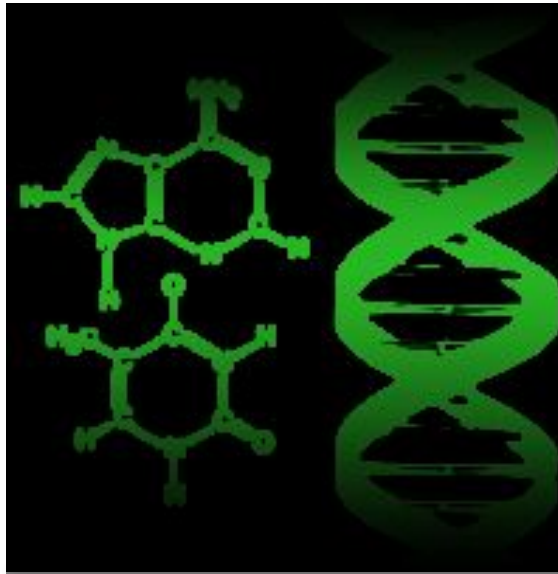
IV.Қолданылған әдебиеттер.



- **Моноклонды антиденелер дегеніміз** – бір жасушалық клонға жататын, иммунды жасушаларды өндіретін антидене. Моноклонды антиденелер кез – келген затта өндіріле алады. Негізінен ақуыздар мен полисахаритерде. Себебі оларда антиденелер спецификалық байланысқан. Моноклонды антиденелер сол заттың детекциясына және тазаруына қатысады. Моноклонды антиденелер биохимияда, молекулалық биологияда, медицинада кеңінен қолданылады. Егер МК антиденелерді дәрілік препарат ретінде қолданса, оның аты *mab* – қа аяқталады.



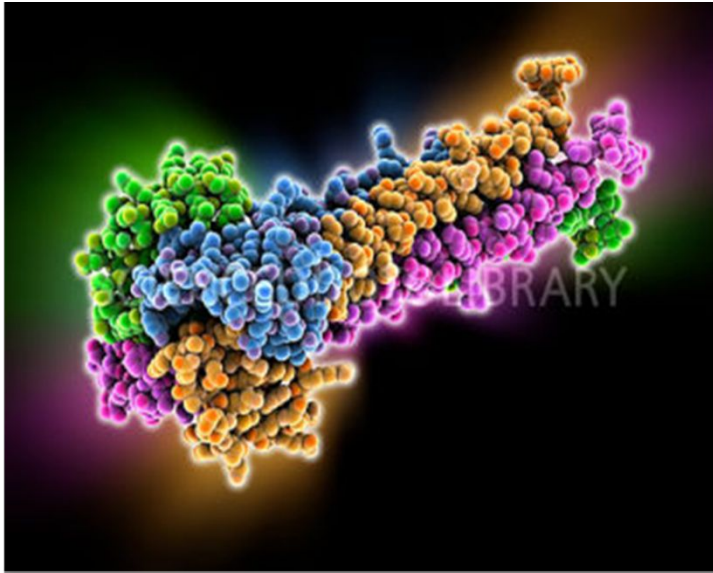
- Моноклонды антиденелерді өткен ғасырдың 50 жылдарындағы иммунохимиктер иммуноглобулин құрылысын зерттегенде қолдана бастады. Яғни олар лимфоидты ісік жасушаларының – миеломаның өнімдері.
- **Миелома** – ол сүйек кемігінің жасушасынан дамиды ісік. Ол антидене түзетін шектеусіз көбейетін лимфоидты жасушалар клондары болып табылады.



- **Моноклонды антиденелерді алудың мақсаты** – берілген арнайы антиденелерді түзетін шектеусіз көбеюші жасушалар клонын алу болды. Бұл мақсатты 1975 жылы Жорж Кёлер және Сезар Мильштейн қалыпты лимфоциттер мен миелоидты жасушаларды қоректі орталарда қосып, гибрид алған.



Селекция арқылы **Жорж Кёлер** және **Сезар Мильштейн**, керекті арнайылығы бар антиденелер синтездеуге және жасанды ортада шексіз өсуге қабілетті гибрид жасушаларын бөліп алған. Осылай, гибридтік жасушаларға өзгеше мәңгілік қасиеті пайда болған. Дәл осы жасушалық гибридтер түрін гибридома деп атаған. Индивидуальды гибридтік жасушаны бөліп алып, дақылдандырып клон алуға болады. Бұндай клон *in vitro* бір антигендік детерминантасына арнайы антиделерді көп мөлшерде өндіреді.



- Егер гибридома антиденелер синтездесе, оларды моноклонды антиденелер деп атаймыз. Тәжірибелерің көрсетуіне қарай моноклонды антиденелерді тек қана моноклонның өнімі ғана емес, сонымен бірге бұл біркелкі иммуноглобулиндердің таза препараты.

- МОНОКЛОНДЫ АНТИДЕНЕЛЕР БІР ИЗОТИПКЕ, БІР АЛЛОТИПКЕ ЖАТАДЫ ЖӘНЕ ОЛАРДА БІРДЕЙ ӨЗГЕРМЕЛІ АЙМАҚТАРЫ, ҚҰРАМЫ ЖӘНЕ ИДИОТИПІ БОЛАДЫ. 1984 ЖЫЛЫДЫҢ АҚПАН АЙЫНДА **ЖОРЖ КЁЛЕР** ЖӘНЕ **СЕЗАР МИЛЬШТЕЙН** «IN VITRO» МОНОКЛОНДЫ АНТИДЕНЕЛЕР АЛУДЫҢ *ГИБРИДОМДЫҚ ТЕХНОЛОГИЯСЫН АШҚАНЫ ҮШІН НОБЕЛЬ СЫЙЛЫҒЫНА* ИЕ БОЛҒАН.



Клиникада моноклонды антиденелер адамның иммундық статусын бағалауында, лимфоциттердің субпопуляцияларын іріктеуінде кең қолданылады. Белгілі бір антигендерге моноклонды антиденелер адамдағы жедел лейкоздың түрін дифференциялауында қолданылады. Ісік метастаздарын анықтауда, жасушалық улармен конъюгацияланған иммунотоксин ретінде қатерлі ісіктердің бірнеше түрінде арнайы емдеуде қолданылады. Қазіргі кезде гендік инженерия жетістіктері жаңа, гуманизацияланған моноклонды антиденелер дайындауға мүмкіндік береді. Олар адамның әртүрлі патологиялық жағдайларында иммунды емде қолданатын жаңа арнайы дәрілік препараттарды дайындауда өте перспективті.

**Гибридомды технология-тоқтаусыз
пролиферацияға қабілетті, алдын
ала миеломдық антигендермен
иммунизацияланған организм
көкбауыры лимфоциттерінің
полиэтиленгликоль көмегімен
байланысуы.**

Гибридомды жасушалар мен МКАД-і алу.

Жануарды (көбінесе тышқанды) қажетті антигендік материалдармен иммунизациялайды.

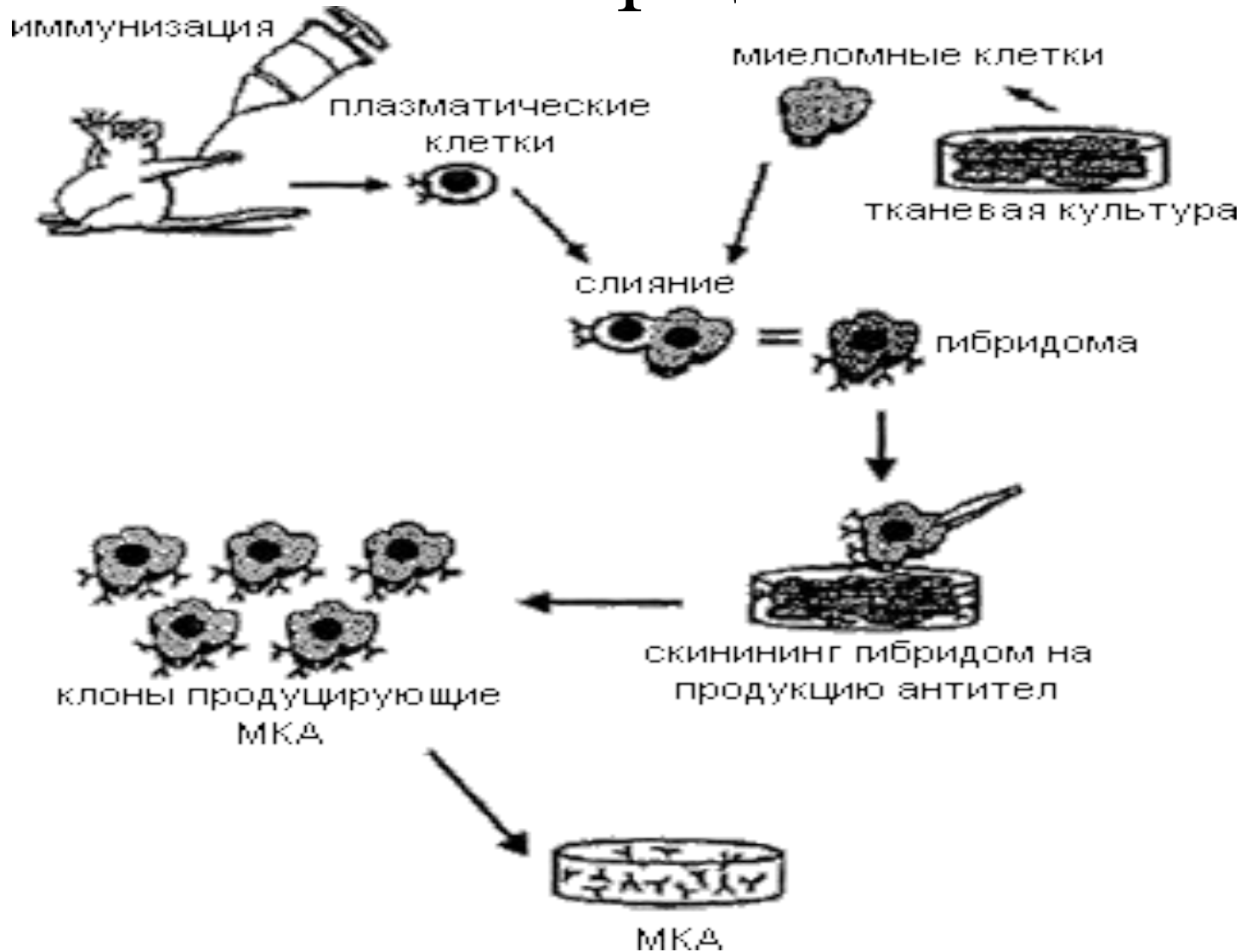
Антиденелердің продукциясы басталғаннан соң, көкбауырды жеке алып, одан антиденелерді өндіруші В-лимфоциттерді бөліп алады да, барлық жасушаларды В-миеломды жасуша культурасымен араластырады. Бұл культураға жасушаның сыртқы қабықшасының еруіне әсер етіп, оларды біріктіретін зат қосады.

(полиэтиленгликоль, лизомцитин,
Сендай вирусы)

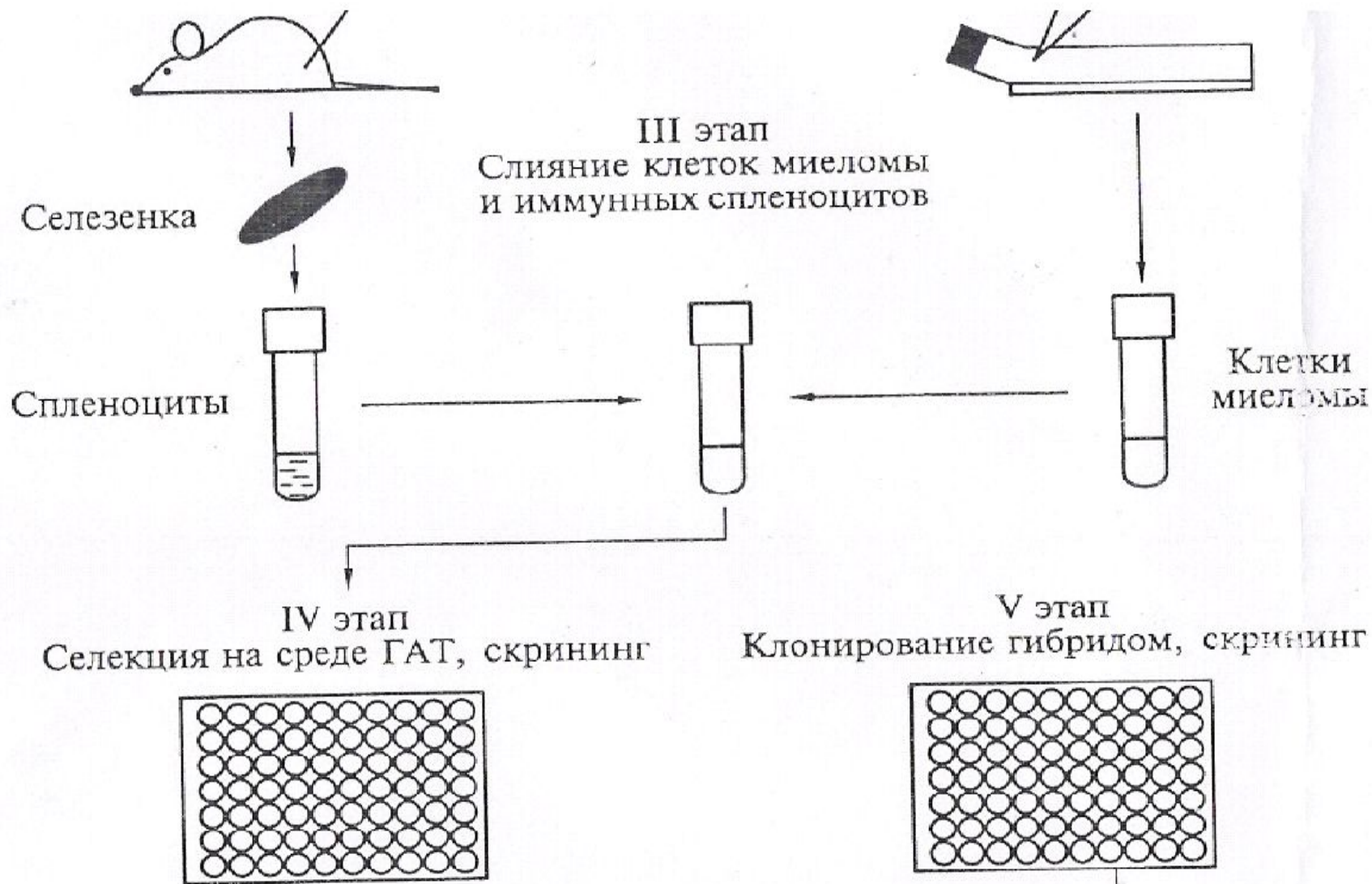
Гибридомаларды алу және моноклоналды антиденелерді бөліп алу кестесі: Антиген еңгізу.

- Көк бауырдың жасушаларын алу (10^8).
- Миеломды жасушаларды алу (10^7).
- ПЭГ 4000 ортасында жасушаларды қосу.
- ГАТ ортасында гибридомаларды іріктеу.
- Клондарды бөліп алу.
- Дақылды сұйықтықты антиденелер болуына тексеру.
- Пассаждарда реклондау.
- Дақылды сұйықтықтан моноклоналды антиденелерді бөліп алу.
- Клонды -70 градуста сақтау.
- Асциттік ісік алу.

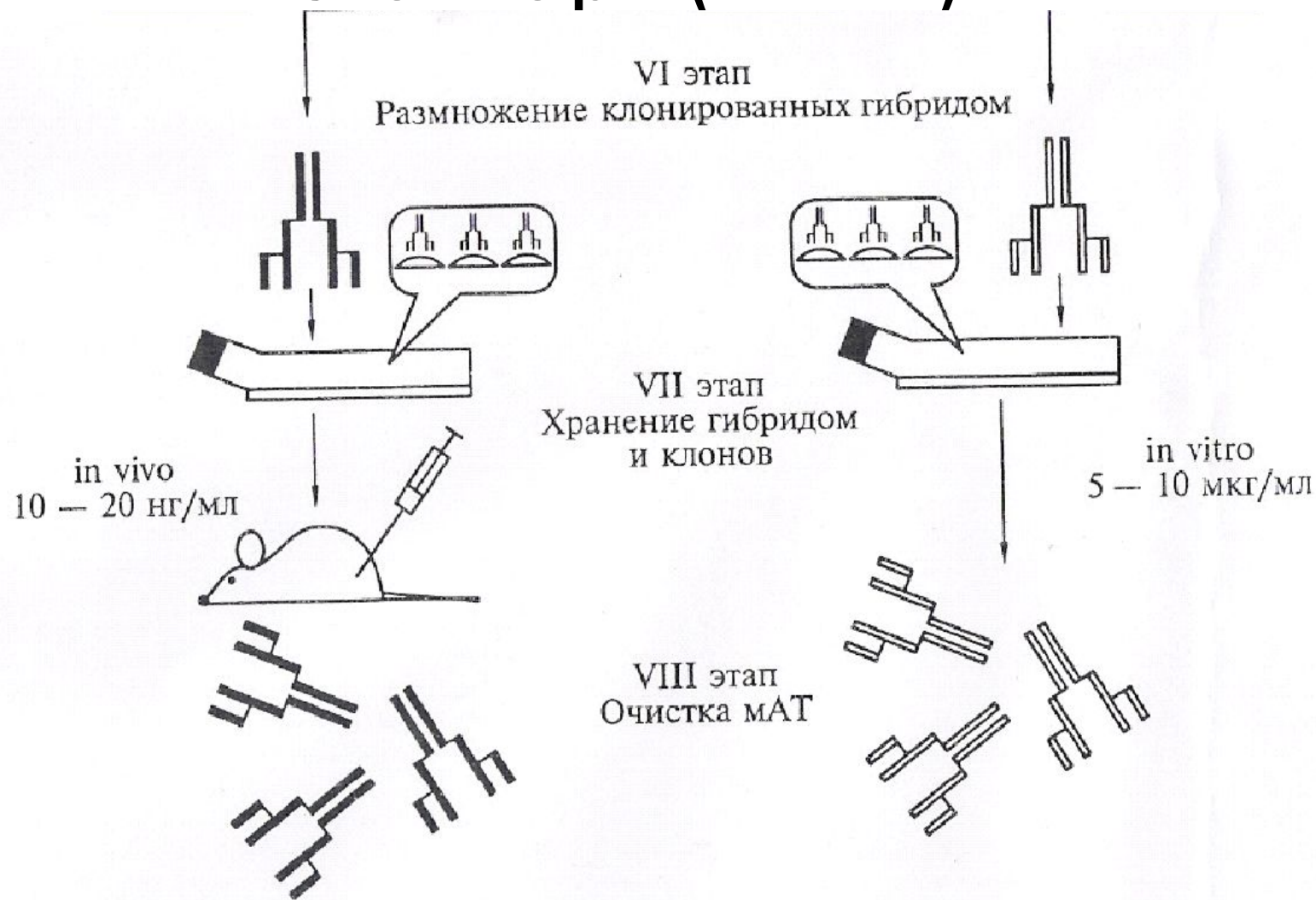
Моноклонды антиденелерді алу сызбанұсқасы

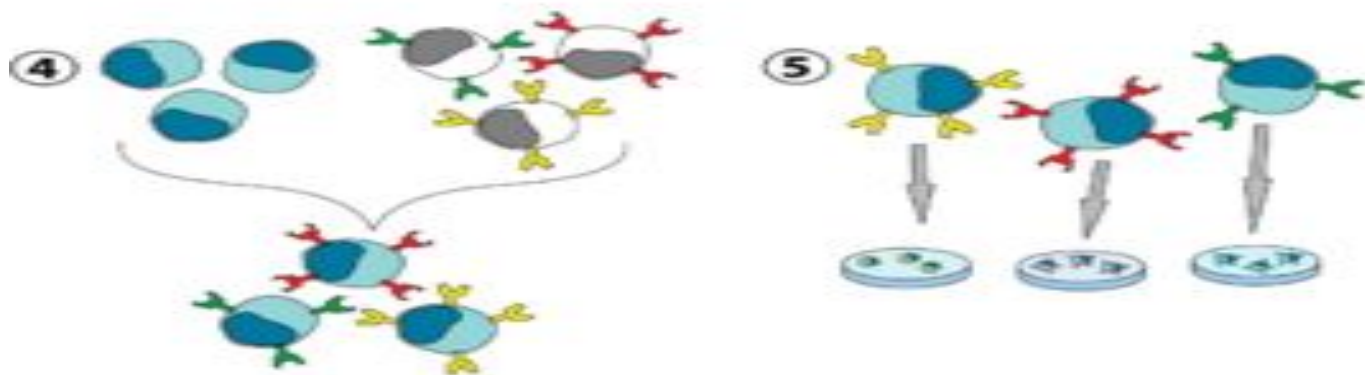


Гибридомды технологиялардың этаптары(I-V)



Гибридомды технологиялардың этаптары(VI-VIII)





Martin Brandt 06

Қосылу

Бұл этапта қолданылатын зат-полиэтиленгликоль.

Оны қолданудың екі негізгі нұсқасы бар:

1. Бір минуттың ішінде 370 градуста араластыра отырып ПЭГ-нің 50 пайыздық ерітіндісін қосады да, центрифугалайды.
2. Біршама ұзақ уақыт жүргізіледі. Ол үшін ПЭГ-нің 30-35 пайыздық ерітіндісін қолданады. 2 минут центрифугалайды да, бөлме температурасында 5-7 минут ұстайды.

Гибридомды клеткаларды клондау

Жаңадан алынған гибридомды клеткалар хромосома жоғалтуына байланысты стабильділігі төмен болады. Кейбір жасушалардың антидене өндіруші қабілеті болмайды. Сондықтан клондау жүргізеді. Ол үшін жартылай сұйық агарда клондау мен цитофлуориметр қолданылады.

Жартылай сұйық агар үшін 2 жүйе қолданылады. Ол жүйе екі қабаттан тұрады. Төменгі қабат (қатты) құрамында 0,5 пайыздық агар болады. Енді оның үстіне екінші сұйық қабатты қосады. Оның құрамында 0,3 пайыздық агар және клондаушы жасушалар болады.

Цитофлуориметрде флюоросцентті
микрошариктер қоллданылады. Оны
антигенмен қаптайды. Мұндай
микрошариктер арнайы антигендік
гибридомды клеткаларда
адсорбцияланады да, осы құралда
оларды бөліп алады.

МКАД көбейту

Гибридомды клеткаларды сұрыптаудан кейін, МКАД көбірек алу үшін көбейту керек. Культивациялау басында гибридомды жасушалар баяу көбеюі мүмкін. Сондықтан, жасуша концентрациясы 0,5 млн/мл мөлшерінен аспауы керек.

Антиденелерді тазалау

Егер антиденедерді тек таза күйінде іріктеп алу керек болса, антиденелердің кластары мен класшаларын анықтау керек. Себебі, әр антидене кластары үшін-тазалау әдісі әртүрлі.

-Ухтерлони бойынша иммунодиффузия
-иммуносорбент.

Қолданылатын құрал-жабдықтар

1. Горизонтальды және вертикальды түрде стерильді ауа беретін ламинирленген бокс. Мұндағы стерильдеу фильтрлер көмегімен жүреді, бұл фильтрлер 0,3 мкм көлеміндегі ұсақ бөлшектерді ұстайды.
2. Инкубатор-автоматты түрде ылғалдылық температура, CO₂ концентрациясын реттейді.
3. Төмен жылдамдықты центрифуга.
4. Фазоконтрастты микроскоп.
5. Тоңазытқыш.
6. Су моншасы.
7. 96,24 лункалы планшеткалар.
8. Гибридтерді алу үшін қолданылатын орталар дайын ерітінділер түрінде болады.
 - Дульбек ортасы
 - Иксо ортасы

МКАД қолданылуы

- -Жасушаларды идентификациялау:Т- және В лимфоциттерді,басқа жасушаларды және олардың қасиеттерін анықтау.
- -Қазіргі таңдағы антиген және антидене анықтау үшін радиоиммунды,иммуноферментті және иммунолюминесцентті әдістерді орындау.
- -Гендік инженерия,биотехнология.
- -Организдегі антиген локализациясын анықтау, антиденелермен байланысқан дәрілік заттардың жеткізілуі.
- -Антигендерді жою үшін қолданылатын иммуносорбенттерді дайындау үшін.

МКАД-ні диагностика саласында қолдану

- ◎ МКАД көмегімен басқа әдістермен салыстырғанда 10 есе дәлелді және тез арада адам резус-факторын, қан тобын және ағза трансплантациясы кезінде тіндік сәйкестікті анықтайды. Сонымен қатар ісіктерді диагностикалауда да кеңінен қолданылады. Ісік жасушаларындағы антигендер сипатына байланысты сырқат формасы туралы айтуға болады.
- ◎ Мысалы, қазіргі таңда лейкоздың 8 түрі анықталған және әрқайсысының емі әртүрлі. Ол үшін науқастың венасынан алынған қанды МКАД-ы бар пробиркада араластырады, яғни қан құрамындағы антигендерге антиденелер қарсы бағытталады. Содан кейін осы қанның ісік жасушаларынан антигенді анықтаймыз да, ісік түрін табамыз.

◎ Мысалы, қазіргі таңда лейкоздың 8 түрі анықталған және әрқайсысының емі әртүрлі. Ол үшін науқастың венасынан алынған қанды МКАД-ы бар пробиркада араластырады, яғни қан құрамындағы антигендерге антиденелер қарсы бағытталады. Содан кейін осы қанның ісік жасушаларынан антигенді анықтаймыз да, ісік түрін табамыз.

Гибридома неге шексіз пролиферацияланады?

Гибридома дегеніміз-бір ғана жасуша ұрпақтары.

Гибридома шексіз бөлінуге қабілетті,себебі ол миеломды клеткалардан шексіз көбейіп,өсу қабілетін алады және тұрақты түрде МКАД өндіреді.

Яғни,біз гибридоманы жоғары сапалы өнім беретін, тәулік бойы жұмыс атқаратын өндіріс деп түсінеміз.

Гибридомалардан МКАД алу

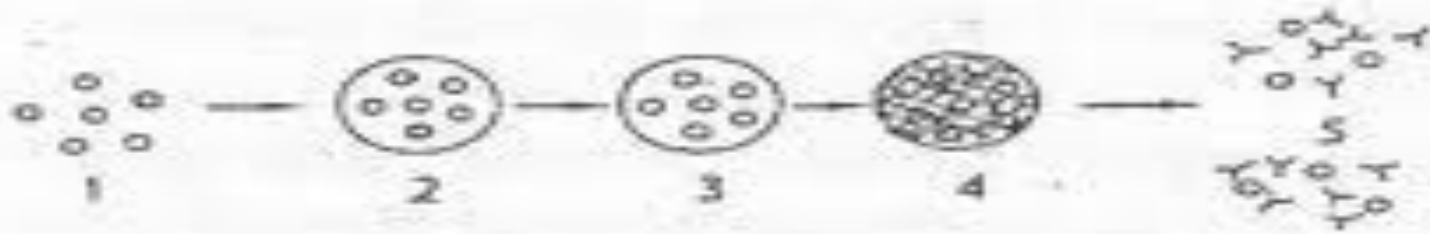


Рис. Получение моноклональных антител с помощью инкапсулированных клеток гибридомы (схема): 1 — клетки-гибридомы, 2 — клетки-гибридомы в растворе натрия альгината, 3 — клетки-гибридомы в желированном растворе натрия альгината, покрытые полилизиновой мембраной, 4 — клетки-гибридомы, в "дырчатых" микросферах, 5 — антитела и клетки-гибридомы после разрушения полилизиновой мембраны.

Қорытынды

Гендік инженерия саласындағы МКАД алу жаңа перспективті гуманизирленген антиденелерді алуға жол ашты және бұл онкологиялық практикада кең қолданыс тауып отыр. Мұндай жетістіктер қатерлі ісікке шалдыққан науқастарды емдеуде қолданылады және жаңа препараттарды алуға көмектеседі.

Мысалы, Герцептин және Мабтер деп аталатын дәрілік препараттар онкология және фармакология саласындағы нағыз таңғаларлық жаңалық болып табылады. Олардың әсері биотерапияға бағытталған.

МКАД –і қолдану арқылы ісік жасушаларын жоюға болады.

Қазіргі таңдағы гибридомды технология организмнен тыс түрде де жүргізіледі. Бұл әсіресе адамдардың МКАД алу үшін қажет.

Бұдан да басқа жетістіктерге жету үшін бұл сала бойынша білімді әлі де тереңдете түсу керек.

• Қолданылған әдебиет

Воронин Е.С., Петров А.М., Серых М.М., Девришов Д.А. Иммунология.- М. Колос-Пресс, 2002.-408с.

- Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А, Сидорович И.Г. Иммунология.- М.: Медицина, 2000.- 432с.
 - Алешукина А.В. Медицинская микробиология. Ростов-на-Дону: «Феникс». -2003.
 - Микробиология и иммунология. Под ред. А.А.Воробьева. М.: «Медицина». -1999.
 - Муромцев Г.С. и др. Основы сельскохозяйственной биотехнологии.
 - Никитин Е.Б. Основы биотехнологии. Павлодар.-2004.
 - Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение.
М. Мир. -2002. 589 с.
 - Корочкин Л.И. Биология индивидуального развития(Генетический аспект)
М. МГУ. -2002.- 264 с.
 - Шевелуха В.С., Калашникова Е.А., Воронин Е.С. и др. Сельскохозяйственная биотехнология. 2-е изд. М. Высшая школа. -2003.
-