

Семей Мемлекеттік Медицина Университеті
Жалпы иммунология кафедрасы

СӨЖ

Тақырыбы: Моноклонды антиденелер (МКАД). Гибридомды технология. МКАД иммунологияда негізгі қолдану аймағы.

Орындаған: Алдабергенова А.Д.

310 топ ЖМФ

Тексерген: Абдрахманова Г.Ж.

Семей 2016

ЖОСПАР

- ◎ Кіріспе
- ◎ Негізгі бөлім
- ◎ 2.1. Гибридомды технология, этаптары.
- ◎ 2.2. Қолданылатын құрал-жабдықтар.
- ◎ 2.3. МКАД қолданылуы.
- ◎ 2.4. Гибридома. Гибридома неге шексіз пролиферацияланады?
- ◎ Қорытынды.
- ◎ Қолданылған әдебиеттер.

- Антигендерді ағзаға енгізу, олардың детерминанттарға қарсы антиденелердің қалыптасуына ықпал етеді. 1975 жылы Г.Келлер және К.Мильштейн моноклонды антиденелерді гибридомды технология көмегімен алды. Бұл уақытқа дейін 10-12 жыл бойы тек қана ісік жасушаларын клондау жүзеге асқан.
- Моноклонды антиденелер-бір жасуша клонынан синтезделетін иммуноглобулиндер.
- МКАД-антиген молекуласындағы бір ғана антигендік детерминанттармен байланысады.

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

Гибридомды жасушалар мен МКАД-і алу.

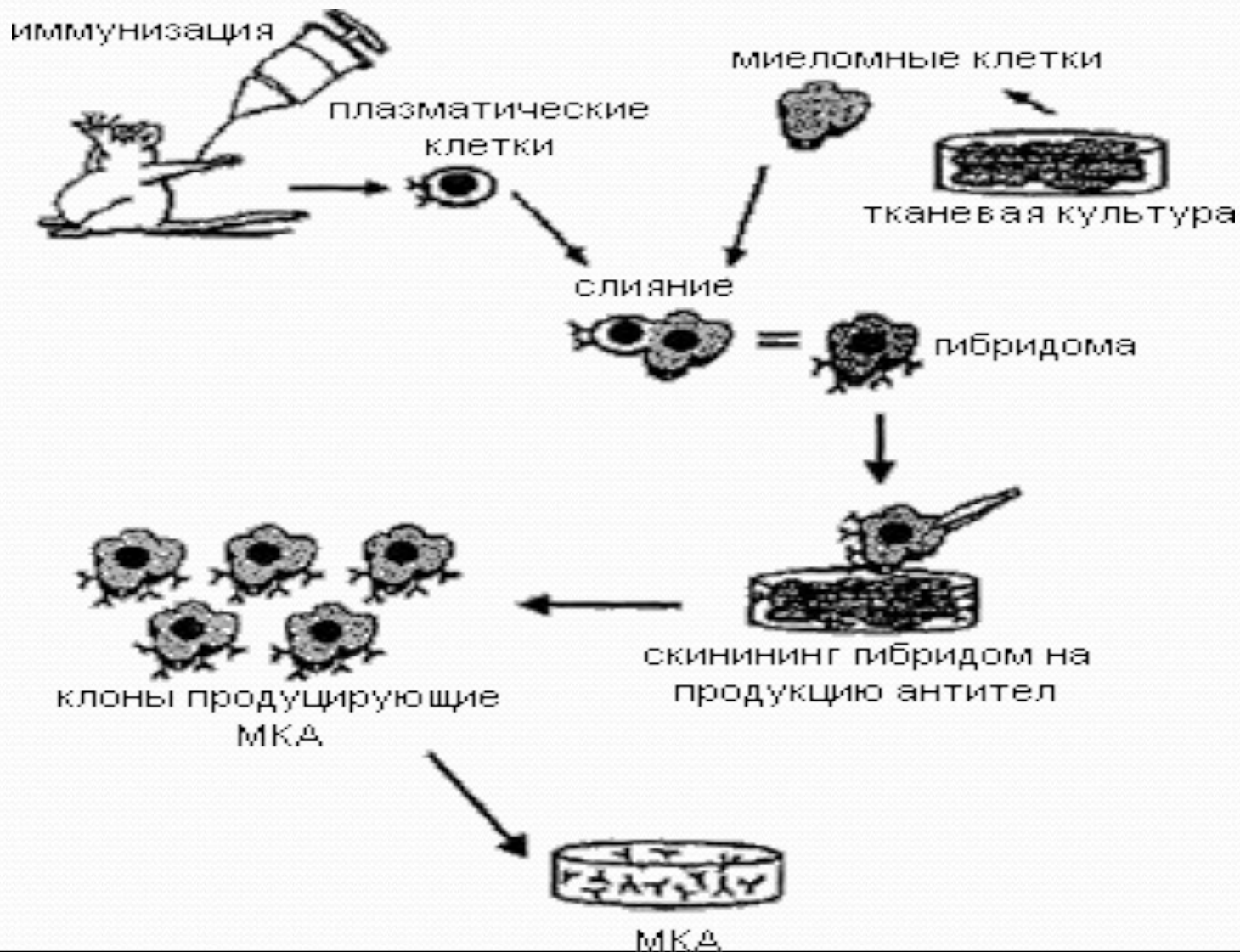
- ◎ Жануарды (көбінесе тышқанды) қажетті антигендік материалдармен иммунизациялайды. Антиденелердің продукциясы басталғаннан соң, көкбауырды жеке алып, одан антиденелерді өндіруші В-лимфоциттерді бөліп алады да, барлық жасушаларды В-миеломды жасуша культурасымен араластырады. Бұл культураға жасушаның сыртқы қабықшасының еруіне әсер етіп, оларды біріктіретін зат қосады. (полиэтиленгликоль, лизомцитин, Сендай вирусы)

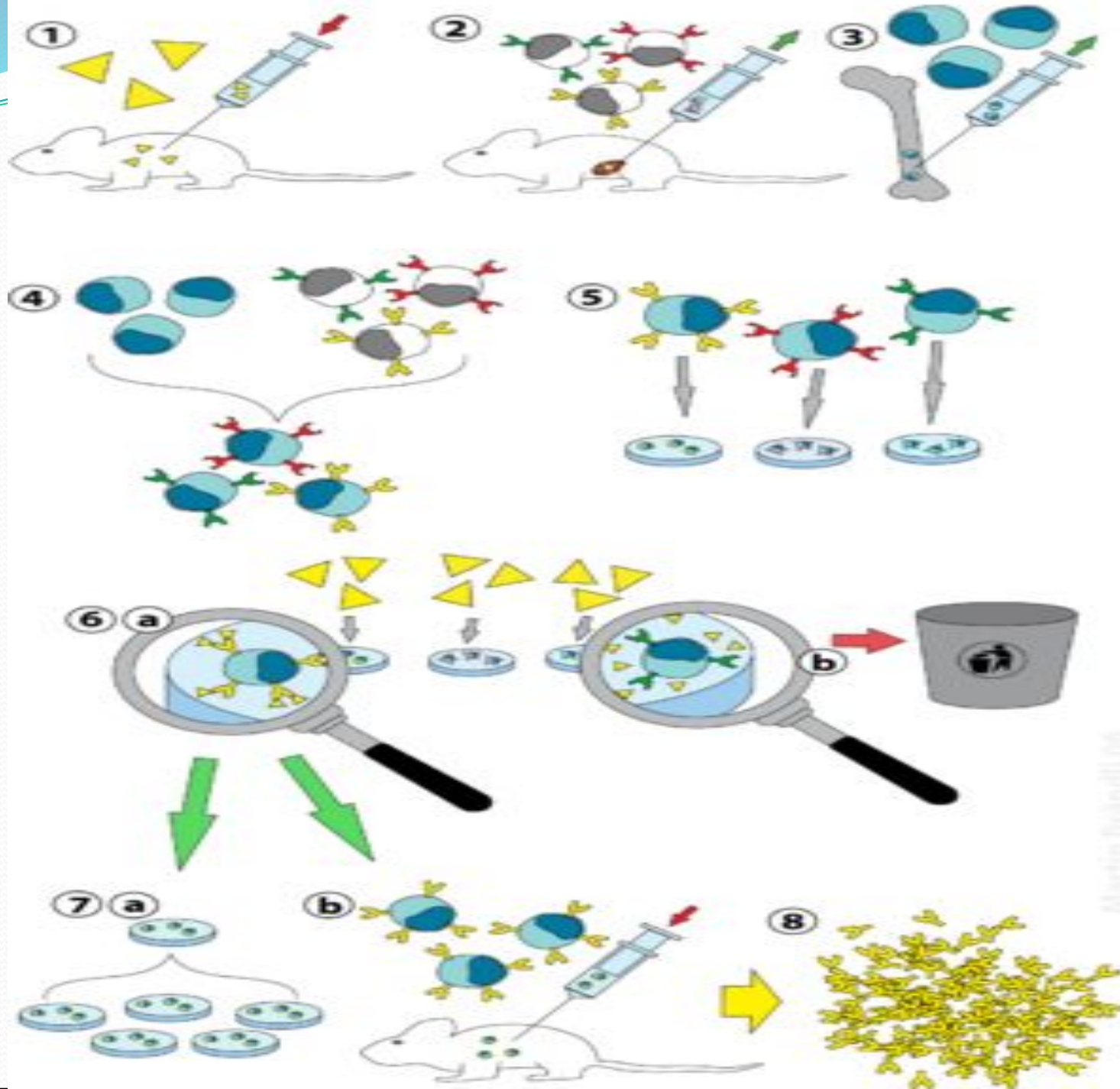
○ Нәтижесінде, әртүрлі гибридті жасушалар алынады да, ал тағы бір бөлігі гибридтелмеген күйде қалады. Енді тек қана гибридті жасушаларды бөліп алу үшін арнайы ГАТ орталарына себеді. ГАТ ортасының құрамында гипоксантин, аминоптерин, тимидин болады. Бұл орталарда аналық клеткалар өмір сүрмейді, тек қана гибридті жасушалар тірі қалады.

○ Бірақ, олардың қасиеттері әртүрлі болады, себебі иммунизацияланған жануар көкбауырында антидене түзуші жасушалардан басқа да әртүрлі лимфоциттер болады. Сондықтан, қажетті антиденелерді өндіруге қабілетті гибридомды клеткаларды бөліп алу қажет. Ол үшін алынған жасушаларды қоректік ортамен араластырып, арнайы планшет лункаларына орналастырады және әрбір лункаға бір-бір жасушадан түсуін қадағалайды.

- Біраз уақыт өткен соң, әр лункада қалыптасқан антиденелерді анықтайды да, гибридомды жасушалардың клонының бастаушысы болатын жасушалар табылады.
- Іріктеліп алынған гибриді жасушаларды *in vitro* және *in vivo* жағдайында культурациялап, қажетті МКАД-мен жасушалар мөлшері алынады. Гибридомды клеткаларды мұздатылған күйде сақтауға болады. Гибридомды клеткаларды дайындау барысында антигендердің әртүрлі эпитоптарына антидене өндіретін жасуша клондары алынуы мүмкін. Осыған байланысты алынған нәтижеге жан-жақты және әртүрлі бағытта талдау жүргізеді.

Моноклонды антиденелерді алу





Гибридомды технология этаптары

- ◎ -жануарды иммунизациялау
- ◎ -қосылу
- ◎ -АД клондарын алу
- ◎ -клондау және реклондау
- ◎ -гибридомды клеткаларды алу
- ◎ -құрамында АД-і бар культуралық сұйықтық алу
- ◎ -АД-і бөліп алу.

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 қолданылады. 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 антиденелерді 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

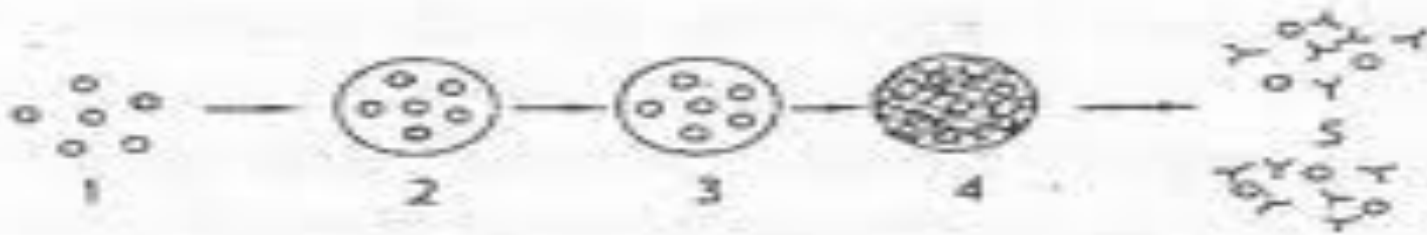


Рис. Получение моноклональных антител с помощью инкапсулированных клеток гибридомы (схема): 1 — клетки-гибридомы, 2 — клетки-гибридомы в растворе натрия альгината, 3 — клетки-гибридомы в желированном растворе натрия альгината, покрытые полилизиновой мембраной, 4 — клетки-гибридомы, в "дырчатых" микросферах,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

- ◎ Галактионов В.Г. Иммунология.Москва 2004,73 бет.
- ◎ Хаитов Р.М. Иммунология.458 бет.
- ◎ Интернет желісі.www.google.ru
- ◎ www.yandex.ru

