

Monoklonální protilátka

Monoklonální protilátka je imunoglobulin (protilátka) pocházející z produkce **jednoho klonu aktivovaných B-lymfocytů**, respektive jejich efektorových buněk (plazmocyty) po styku s konkrétním antigenním epitopem. Tyto protilátky jsou dnes hojně využívány jak v základním výzkumu, tak v medicíně pro značení (tagging) specifických molekul.

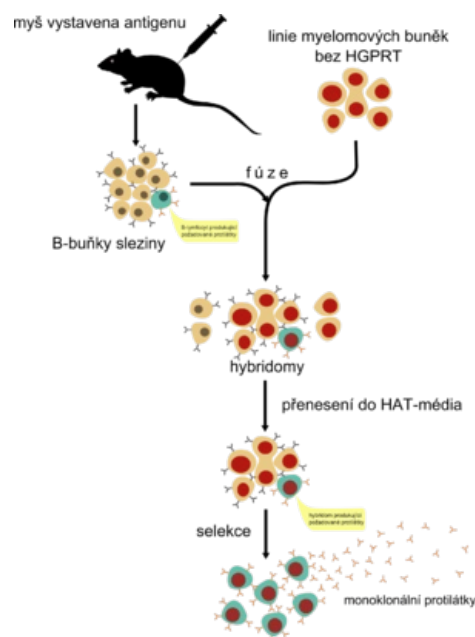
Výskyt v lidském těle

V lidském těle za normálních okolností při reakci na antigen pomocí protilátkové imunitní odpovědi vzniká celá řada aktivovaných klonů B-lymfocytů (které se diferencují v plazmocyty). Výsledkem této reakce je tedy produkce směsi odlišných molekul imunoglobulinů. To znamená, že se jedná o odpověď polyklonální[1] (<http://lfp.cuni.cz/histologie/education/guides/ihc/node13.html>) (z více klonů protilátek). **Za patologických okolností** ale může nastat stav, kdy koncentrace určitých monoklonálních protilátek převládne a ostatní menší klony protilátek jsou díky této nadprodukci potlačeny. Jedná se buď o **chronickou zánětlivou stimulaci** nebo o **nádor z plazmatických buněk**, tzv. **plazmocytom (myelom)**. Při **chronické zánětlivé stimulaci** jde ale o protilátky vzniklé z benigních klonů B-lymfocytů. V případě druhém se **nádorově změněný plazmocyty** vymkne regulaci a začne se nekontrolovaně dělit, schopnost produkce určitého klonu protilátek (v závislosti na reakci na antigen) však neztrácí. Počet změněných plazmocyty tak roste a tím i produkce monoklonálních protilátek jimi produkovaných. Ve výsledku pak tyto imunoglobuliny myelomového původu převáží nad ostatními protilátkami v těle. Tohoto poznatku bylo využito v moderním výzkumu k umělé produkci monoklonálních protilátek a jejich následnému analytickému, diagnostickému a terapeutickému využití.

Postup při umělé výrobě monoklonálních protilátek

Nejjednodušší by samozřejmě bylo, kdybychom byli schopni kultivovat požadované jednotlivé klony aktivovaných B-lymfocytů a z nich pak získávat řadu různých protilátek. Problémem ale je, že samotné lymfocyty v kultuře rostou velmi pomalu a také rychle podléhají zániku. Naproti tomu výše zmíněná nádorová forma plazmocyty (myelomová buňka) má ideální vlastnosti pro kultivaci in vitro. Jako každá nádorová buňka se snadno a rychle dělí a má dlouhou životnost. Myelomové buňky získáme v laboratorních podmínkách pomocí jejich indukce u pokusných zvířat po intraperitoneální aplikaci injekce minerálního oleje. Minerální olej u experimentálních zvířat působí jako karcinogen a některé plazmocyty se přemění v nádorové buňky myelomu, které lze pak snadno odebrat a kultivovat. Zatím ale neprodukují požadované monoklonální protilátky. Je třeba je ještě zfúzovat s požadovaným klonem B-lymfocytů. Z této fúze vznikne hybridní buňka, která se příznačně nazývá **hybridom**. Hybridom si zachoval vlastnosti myelomových buněk i B-lymfocytů, rychle se dělí, je téměř nesmrtelný a produkuje protilátky B-lymfocyty použitého při fúzi. Zde uvedeme stručný proces produkce hybridomových buněk za předpokladu, že už jsme si připravili vhodnou linii myelomových buněk, tzn. bez enzymu y (HGPRT), který katalyzuje metabolismus purinů:

1. Požadovaný klon B-lymfocyty získáme opět z experimentálního zvířete, u kterého jsme vyvolali injekcí konkrétního antigenu imunitní reakci a tím samozřejmě i aktivaci B-lymfocytů a následnou produkci protilátek.
2. B-lymfocyty většinou odebíráme ze sleziny nebo jiného lymfatického orgánu použitého zvířete. Musíme ale počítat s tím, že se nejedná o jeden klon B-lymfocytů specifických na náš antigen.
3. Již mimo tělo (in vitro) indukujeme fúzi **linie myelomových buněk bez HGPRT** a extrahovaných B-lymfocytů pomocí propylenglykolu.
4. Vzniknou nám **hybridomy**. Roztok propylenglykolu a ostatních reaktantů bude ale vedle hybridomů s produkcí požadovaných monoklonálních protilátek ještě obsahovat část nesfúzovaných buněk (jak lymfocytů, tak myelomových buněk) a hybridomy produkující jiné než požadované imunoglobuliny. Nesfúzované lymfocyty (zde už spíše plazmocyty) jsou in vitro velice konkurenčně slabé, nedělí se a hynou.
5. Buněčnou kulturu přeneseme do média obsahujícího hypoxanthin (derivát adeninu), aminopterin (antagonista kyseliny listové v organismu) a thymidin (HAT-medium). Tímto zahynou i nesfúzované myelomové buňky, protože neobsahují enzym HGPRT a nejsou tak schopny využít deriváty purinů v živném HAT-médiu obohatěném. Hybridomové buňky naopak díky podílu normálních lymfocytů v genomu obsahují sekvenci pro enzym HGPRT a na HAT-médiu prosperují a proliferují.
6. Nakonec pomocí speciálních testů z kultury vydělíme pouze hybridomy produkující jen jeden klon protilátek – monoklonální protilátky.



Monoklonální protilátka

Využití monoklonálních protilátek

- **Pro analytické účely:** pomocí vazby monoklonálních protilátek na určitý protein (zde působí jako antigen)

jsme schopni určit jeho kvalitu i kvantitu ve zkoumaném vzorku,

- **Pro diagnostické účely v medicíně:** jsou schopné se specificky navázat na antigeny vyvolávající různé choroby (ELISA...),
- **Pro terapeutické účely v medicíně:** určité druhy rakovin můžeme léčit nádorově specifickými protilátkami, na které jsme kovalentně navázali toxiny nebo zářič. Dochází tak k selektivní likvidaci nádorových buněk a minimálnímu poškození okolní tkáně.

Odkazy

Související články

- Specifická imunita
- Využití monoklonálních protilátek v medicíně

Externí odkazy

- Monoclonal antibodies (anglická Wikipedie)

► Monoclonal Antibody Production (<https://www.youtube.com/watch?v=7ymKofaHCoY>) - YouTube prezentace (anglicky)

Použitá literatura

- ALBERTS, B, D BRAY a A JOHNSON. *Základy buněčné biologie*. 2. vydání. Espero Publishing, 2005. 740 s. ISBN 80-902906-2-0.
- CAMPBELL, Neil A a Jane B REECE. *Biologie*. 1. vydání. Brno : Computer Press, c2008. ISBN 80-251-1178-4.
- GOETZ, Petr, et al. *Kapitoly z lékařské biologie : Díl 1*. 2. vydání. Jinočany : H+H, 1995. 176 s. ISBN 80-85787-98-9.
- HOŘEJŠÍ, Václav a Jiřina BARTŮŇKOVÁ, et al. *Základy imunologie*. 4. vydání. Praha : Triton, 2009. ISBN 978-80-7387-280-9.