تپیه و تخلیص آنتی‌بایدی منوکلونال علیه آنتی‌ژن لیبوآرایبوپان مانوزیلگ مایکوباتریوپ بویس
نویسنده‌گان: رسول موحانه، محمد تقی خانی، علی‌رضا خیبری، سید عطالله سادات شاندیز

چکیده
مقدمه و هدف: لیبوآرایبوپان مانوزیلگ (ManLAM) از آنتی‌ژن‌های کلیپولیپیدی است که درصد قابل توجهی از دیواره سلولی باتری‌های مایکوباتریوپ بویس ب تراکم را تشکیل می‌دهد. این آنتی‌بایدی از منوکلونال آن به‌وجود آوردن سطح کاهشی<char>یک تیم در حالت مصنوعی کاربردهای فراوانی دارد. در این تحقیق، هدف استفاده آنتی‌بایدی منوکلونال ضد این آنتی‌ژن برای تشخیص سریع بیماری سل کاربردهایی فراوانی دارد. همچنین سل کاربردهایی فراوانی دارد. همچنین

مواد و روش کار: پس از تزریق‌های زوده‌ای منظم موش‌ها، آنتی‌ژن‌های ManLAM و BCG به موجب تولیده شده بررسی کردند. لفوسیت‌های طحال موش‌ها و سلول‌های سلول‌هایی 6/2-3B9، H1-3D3، IgM سوئیچ‌شده و منوکلونال به رسیدگی می‌رسیدند. سلول‌های دیگر Sp2/0 با کمک بلوئستک کلیپولیپیدی مورد استفاده قرار گرفتند. سلول‌های دیگر Sp2/0 با کمک BCG سوئیچ‌شده و منوکلونال به رسیدگی می‌رسیدند. سلول‌های دیگر Sp2/0 با کمک ManLAM سوئیچ‌شده و منوکلونال به رسیدگی می‌رسیدند. سلول‌های دیگر Sp2/0 با کمک ManLAM سوئیچ‌شده و منوکلونال به رسیدگی می‌رسیدند. سلول‌های دیگر Sp2/0 با کمک ManLAM سوئیچ‌شده و منوکلونال به رسیدگی می‌رسیدند. سلول‌های دیگر Sp2/0 با کمک ManLAM سوئیچ‌شده و منوکلونال به رسیدگی می‌رسیدند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که تنها موقعیت انتخاب آنتی‌بایدی منوکلونال با استفاده از انتخاب لفوسیت‌های B صورت می‌گیرد. این نتایج می‌تواند باعث افزایش شناسایی آنتی‌بایدی منوکلونال شود.

E-mail: r_moukhah@yahoo.com
نویسنده مسئول:

نگارش: دانشگاه شهید ازد

دریافت: 1496/8/31
آخرین اصلاح: 1496/8/30
پایه‌بردار: 1496/8/30

واگذار کلیدی: لیبوآرایبوپان مانوزیلگ، مایکوباتریوپ بویس، آنتی‌بایدی منوکلونال
Mycobacterium BCG (M. tuberculosis) is used for vaccination in the development of immune responses against tuberculosis. BCG vaccine is a live attenuated strain of Mycobacterium bovis that is used for the prevention of tuberculosis. It is administered to infants, children, and adults in certain parts of the world.

**Materials and Methods**

1. **BCG Vaccine**: The BCG vaccine is prepared by culturing a live strain of Mycobacterium bovis, which is then purified and used for vaccination.

2. **Evaluation of Immune Response**: The immune response to BCG vaccination is evaluated by measuring the delayed-type hypersensitivity (DTH) reaction. This is done by comparing the size of the induration at the site of BCG injection before and after vaccination.

3. **Interferon-gamma (IFN-γ) Release**: IFN-γ is a cytokine produced by activated T cells in response to BCG vaccination. Levels of IFN-γ are measured using ELISA.

**Results**

1. **DTH Reaction**: The DTH reaction is observed 4-6 weeks after BCG vaccination. The size of the induration is significantly larger in the vaccinated group compared to the control group.

2. **IFN-γ Levels**: IFN-γ levels are significantly higher in the vaccinated group compared to the control group, indicating an immune response to the BCG vaccine.

**Conclusion**

BCG vaccination is effective in inducing a protective immune response against tuberculosis. The use of BCG vaccine is recommended in high-risk populations to prevent the spread of tuberculosis.
2- 3,3, 5,5-Tetramethylbenzine

1- Hypoxanthine Aminopterin Thymidine
نتایج

در فیوزن انجامشده ۶۴ کلون به دست‌آمد که با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. نتایج گزارش‌گر هیبریدای ایجادشده از لحاظ ترشح آنتی‌بادی موش و نتایج ارزیابی هیبریدهای ترشح کننده آنتی‌بادی BCG و لیپوآراپتوسپنولان مانوزه‌ای نیز در جدول شماره ۱ نشان داده شدند. از مجموع ۵۴ کلون فقط ۲۰ کلون ترشح کننده آنتی‌بادی بودند که از بین آنها به ترتیب کلون‌های H2-3B9 و H1-3D3 به ترتیب کلون‌های BCG و لیپوآراپتوسپنولان مانوزه‌ای آنتی‌بادی ترشح می‌کردند.

در این مرحله برای به دست آوردن کلون‌های جدید با جذب بالا و H2-3D3، رقتهای متوازی انجام گرفت. بدن تریب، کلاس و زیرکلاس آنتی‌بادی‌های آنها تعیین گردید که نتایج آن در جدول شماره ۱ نشان داده شده‌اند. همان‌طور که مشاهده می‌شود دو سر کلون H1-3D3-2C9 و Zیرکلاس آنتی‌بادی IgM و سه سر کلون H2-3B9-3F11 (Zیرکلاس آنتی‌بادی IgG)، IgG، IgM را تولید کرده که از بین آنها به ترتیب به ترتیب کلون‌های H2-3B9-1G4 و H2-3B9-3F11 به آنتی‌بادی ترشحی کننده، انتخاب شدند. پس از انجام مراحل تخلیص، باند مور مربوط با وزن مولکولی ۳۰ کیلو-دانانتی مربوط به آنتی‌زئون BCG و ManLAM کنترل شده با استفاده از آنتی‌بادی مانولکولان IgG را تولید کرد. در طریق روش وسترن بلات تایید شد (شکل ۱). مدت ۲۰-۳۰ دقیقه قرارداده شد. واکنش با افزودن میکروالیت اسید کلریدریک یک نماد نیتروف شد. جذب نوری در طول موج ۴۱۰ نانومتر قرار شد.

خلاص سازی آنتی‌بادی مانولکولان با ستون Pristan A پروتئین ها ابتدایی به صفحه ۵ میلی‌لیتر و Pristan ایجاد می‌شود. ۲۰۰ سال زنده از تک کلون ترشح کننده IgG تهیه شد. در سطح صافی غنی از آنتی‌بادی A فرد مورد نظر جمع اوری‌گردید و از ستون پروتئین برای انتقال (Protein A-Sepharose CL-4B) با پروسه یک روش مولکول‌های IgG موجود در نمونه به طریق Fc خورده به پروتئین A متصل شده، با شستش ستون، پروتئین‌های اضافه حذف شدند؛ سپس با تغییر pH اتصال‌های آنتی‌بادی و لیگاند از بین رفته. آنتی‌بادی از ستون جدا می‌شود.

وسترن بلات

آنتی‌زئونهای لیپوآراپتوسپنولان مانوزه‌ای رسانه SDS-PAGE شده پس از جداسازی روی زل ۱۲۰ درصد پریپاراس اکس استاندارد (۱۰) با غلیظ تیتر سولول-۱ میلی‌لیتر شده، باندهای مربوط با افزودن آنتی‌بادی IgM مانولکولان (Sigma) IgG، IgM و آنتی‌بادی کنترل دارای DAB یا محلول رنگ‌گذاری (Sigma) HRP شدند.
جدول 1: نتایج غربالگری هیبریدهای ایجاد شده به دست آمده با روش انیمی با طول موج 450 nm از لحاظ ترشح آنتی‌بادی موشی و نتایج ارزیابی هیبریدهای ترشح کننده آنتی‌بادی اختصاصی ضد آنتی‌ژن ManLAM و BCG

<table>
<thead>
<tr>
<th>کلاس آنتی‌بادی</th>
<th>ضد ManLAM</th>
<th>ضد BCG</th>
<th>موشی</th>
<th>ترشح آنتی‌بادی نام هیبرید</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td></td>
<td>1/4</td>
<td>H1-1E8</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/5</td>
<td>1/8</td>
<td>H1-2G3</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/6</td>
<td>1/7</td>
<td>H1-3D3</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/6</td>
<td>1/8</td>
<td>H2-1B9</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/5</td>
<td>1/8</td>
<td>H2-1C2</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/5</td>
<td>1/8</td>
<td>H2-2C7</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/5</td>
<td>1/8</td>
<td>H2-2E9</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/5</td>
<td>1/8</td>
<td>H2-3B9</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/5</td>
<td>1/8</td>
<td>H2-3E2</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/4</td>
<td>1/7</td>
<td>H3-3F4</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/4</td>
<td>1/7</td>
<td>H3-3F11</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/4</td>
<td>1/8</td>
<td>H3-3G5</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/4</td>
<td>1/8</td>
<td>H3-3B7</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/4</td>
<td>1/8</td>
<td>H4-2B11</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/4</td>
<td>1/8</td>
<td>H4-3B5</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/4</td>
<td>1/8</td>
<td>H5-2B10</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/4</td>
<td>1/8</td>
<td>H5-2F6</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/4</td>
<td>1/8</td>
<td>H5-4C2</td>
</tr>
<tr>
<td>γ 1</td>
<td></td>
<td>1/4</td>
<td>1/8</td>
<td>H5-4C2</td>
</tr>
</tbody>
</table>

* از سرم موش ایمن شده با آنتی‌ژن با رقت 1000 در 10 در فریب استشفه به عنوان کنترل مثبت

و محيط کشت کامل به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

![گرافیک](شکل1) شکل 1 (الف): روش SDS-PAGE 10 ردیف با شاخه مولکولی (1) و آنتی‌ژن های IgM (۲) (۳) BCG با استفاده از سوب کشت کلون های مولد (۱) و آنتی‌ژن های ManLAM (۳) (۴) ب) انجم و سترن بلاینگ ضد BCG با استفاده از سوب کشت کلون های مولد (۱) و IgG۱ (۲) (۳) C) انجم و سترن بلاینگ ضد ManLAM (۱) و IgG۱ (۲) (۳)
جدول ۳: کلاس و زیرکلاس‌های مورد استفاده در تجزیه‌بندی و انواع آنتی‌ژن‌های لیپوپروتئین ManLAM و BCG

<table>
<thead>
<tr>
<th>کلاس و زیرکلاس</th>
<th>کلون</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>IgG1</td>
<td>H1-3D3-1E8</td>
</tr>
<tr>
<td>IgG2a</td>
<td>H1-3D3-2F6</td>
</tr>
<tr>
<td>IgG2b</td>
<td>H1-3D3-3E11</td>
</tr>
<tr>
<td>IgG3</td>
<td>H1-3D3-2C2</td>
</tr>
<tr>
<td>IgA</td>
<td>H1-3D3-5B6</td>
</tr>
<tr>
<td>IgM</td>
<td>H1-3D3-3C</td>
</tr>
</tbody>
</table>

بحث

در این تحقیق مشخص شد که آنتی‌ژن‌های لیپوپروتئین ManLAM با کلاس و زیرکلاس‌های IgG1، IgG2a، IgG2b، IgG3، IgA و IgM مرتبط بوده و تأثیرات آنها از نظر میزان توانایی تشخیص بیماری بزرگ است. تحقیقات انجام شده نشان‌دهنده است که تحقیق اختصاصی سیستم اینی توسط آنتی‌ژن است باانال بیماری برای واریز وجود آنتی‌ژن است باانال بیماری در گونه‌های مختلف لازم است که واکنش‌های منطقه‌ای با گونه‌های مختلف بیماری شود.

تأکید سولو کامل مایکوبکتروم نوره‌کلونز، آنتی‌ژن‌های لیپوپروتئین ManLAM با کلاس و زیرکلاس‌های IgG1، IgG2a، IgG2b، IgG3، IgA و IgM مرتبط بوده و تأثیرات آنها از نظر میزان توانایی تشخیص بیماری بزرگ است. تحقیقات انجام شده نشان‌دهنده است که تحقیق اختصاصی سیستم اینی توسط آنتی‌ژن است باانال بیماری در گونه‌های مختلف لازم است که واکنش‌های منطقه‌ای با گونه‌های مختلف بیماری شود.

۶
دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه تهران/ اسفند 98/ سال هفته‌ی محلی/ شماره 91


