

عنوان مقاله:

بررسی ایمنی زایی لنفوسیت های B موشی علیه آنتی ژن RhD گلبول قرمز با ترکیب همزمان دو روش in vitro و in vivo

محل انتشار:

پنجمین کنفرانس ملی نوآوری و فناوری علوم زیستی، شیمی ایران (سال: 1400)

تعداد صفحات اصل مقاله: 5

نویسندگان:

سعیده میلانی - دکترای بیوتکنولوژی پزشکی استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون موسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون تهران ایران

فاطمه یاری - دکترای ایمونولوژی استاد مرکز تحقیقات انتقال خون موسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون تهران ایران

بهناز عموحسین - کارشناس علوم آزمایشگاهی- مرکز تحقیقات انتقال خون موسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون تهران ایران

خلاصه مقاله:

پس از آنتی ژن های سیستم ABO ، مهم ترین آنتی ژن گروه خونی در ایجاد عوارض جانبی ناشی از انتقال خون، RhD می باشد که از خاصیت ایمونوژنسیته بسیار بالایی در القای پاسخ های آلوایمنی در افراد دریافت کننده خون ناسازگار برخوردار است. [۱، ۲] یکی از روش استاندارد جهت تعیین فنوتایپ گروه های خونی، روش های ایمونوهماآلوژیک با استفاده از آنتی بادی های منوکلونال اختصاصی ضد آنتی ژن می باشد. [۳] جهت تولید آنتی بادی منوکلونال دو مرحله ی اساسی وجود دارد که شامل ایمونیزاسیون و سپس نامیراسازی لنفوسیت های B به منظور دستیابی به یک کلون مناسب تولید کننده ی آنتی بادی می باشد. ایمونیزاسیون به روش های مختلفی انجام می شود . یکی از این روش ها ، ایمونیزاسیون یون در محیط کشت (in vitro immunization) است. [۴] روش دیگر تزریق آنتی ژن به حیوان آزمایشگاهی و سپس درآوردن طحال و جداسازی سلول های تولید کننده ی آنتی بادی و سپس فیوژ کردن آن با یک سلول میلومایی می باشد. [۵] از مهمترین مزایای ایمونیزاسیون در محیط کشت، تولید آنتی بادی از کلاس IgM می باشد که به علت ایجاد آگلوتیناسیون مستقیم گلبول های قرمز در دمای اتاق و در زمان کوتاه تر استفاده آن در تست های همآگلوتیناسیون در اولویت می باشد . این در حالی است که آنتی بادی های تولید شده در حیوان، غالباً از کلاس IgG می باشند. همچنین در این روش نیاز به استفاده کمتر از آنتی ژن جهت ایمنی زایی در مقایسه با میزان مورد نیاز آنتی ژن جهت تزریق به حیوان می باشد. [۴] از طرف دیگر، در ایمن سازی حیوان آزمایشگاهی ، به علت اینکه تولید و بلوغ سلول های تولید کننده آنتی بادی در محیط in vivo اتفاق می افتد امکان ایجاد سلول های تولید کننده آنتی بادی هایی با اختصاصیت بالاتر ضد آنتی ژن وجود دارد. با این وجود پس از تزریق ایمونوژن ، همه مراحل بعدی وابسته به شرایط فیزیولوژیک حیوان بوده و امکان کنترل فرایند ها در ادامه وجود ندارد. [۶] با توجه به مزایا و محدودیت های روش های ایمونیزاسیون in vivo و in vitro یکی از استراتژی های موثر، می تواند ترکیب کردن این دو روش باشد. هدف در این مطالعه ، ایمن سازی لنفوسیت های B موشی به صورت ترکیبی از شرایط in vivo و in vitro جهت ایجاد سلول های تولید کننده آنتی بادی بر علیه آنتی ژن RhD و مطالعه کارایی آنتی بادی های تولید شده در شناسایی این آنتی ژن با روش الایزا مورد بررسی قرار گرفت. روش تحقیق موش Balb c با سن حدود ۲ ماه تهیه شده و پس از بیهوش کردن ، طحال آن خارج گردید. طحال در آزمایشگاه به پتری دیش حاوی محیط RPMI ۱۶۰۰ حاوی ۲۰٪ سرم جنین گاوی و ۲٪ پنیسیلین-استرپتومایسین منتقل گردید. جهت انجام in vitro immunization سلول های لنفوسیتی موجود در طحال ، آنتی ژن محلول RhD با غلظت ۵۰۰ ng/ml با سرنگ انسولین به بافت طحال تزریق گردید. سپس طحال در انکوباتور حاوی ۵٪ CO₂ و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴ روز انکوبه شد. روز پنجم بافت طحال از انکوباتور خارج و با سرنگ حاوی محیط RPMI جهت خارج نمودن لنفوسیت های B چند بار در زیر هود شستشو داده شده و سپس لنفوسیت ها به چاهک های پلی ...

کلمات کلیدی:

ایمنی زایی، آنتی ژن RhD، لنفوسیت in vitro، in vivo، B.

