

# МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА

Подготовлено доцентом кафедры  
клинической иммунологии ТГМА  
Ю.И.Будчановым

18.12.2010



моноклональные антитела

последние 24 часа

Поиск

[Расширенный поиск](#)  
[Настройки](#)

Поиск в Интернете  Поиск страниц на русском

Веб

Результаты: 1 - 20 из приблизительно 144 за период последние 24 часа для моноклональные антитела.

17 час. назад - [Американские ученые получили универсальные антитела против гриппа ...](#)

Американские ученые синтезировали **моноклональные антитела**, способные защитить человека от большинства вирусов гриппа типа А. По словам исследователей

## моноклональные антитела - Поиск в Google - Opera

Файл Правка Вид Закладки Виджеты Инструменты Справка

Создать вкладку

моноклональные ан...



http://www.google.ru/search?hl=ru&newwindow=1&q=%D0%BC%D0%BE%D0%BD%D0%BE%D0%BA%D0%BB%D0%BE%D0%BD

budchanov@gmail.



моноклональные антитела

Результатов: примерно 32 700 (0,28 сек.)

Поиск

[Расширенный поиск](#)

## monoclonal antibody - Поиск в Google - Opera

Файл Правка Вид Закладки Виджеты Инструменты Справка

Создать вкладку

monoclonal antibody...



http://www.google.ru/search?hl=ru&newwindow=1&q=monoclonal+antibody&aq=0&aq=g10&aql=&oq=monoclonal&gs\_rfai=

budchanov@gmail.



monoclonal antibody

Результатов: примерно 49 400 000 (0,19 сек.)

Поиск

[Расширенный поиск](#)

[Все результаты](#)

[Книги](#)

[Ещё](#)

[Aviva Systems Biology](#)

[www.avivasysbio.com](#)

Your source for **antibodies**, kits, peptides, and more for research.

**49 400 000**

**ССЫЛОК**

Рекламная ссылка

Рекламные с

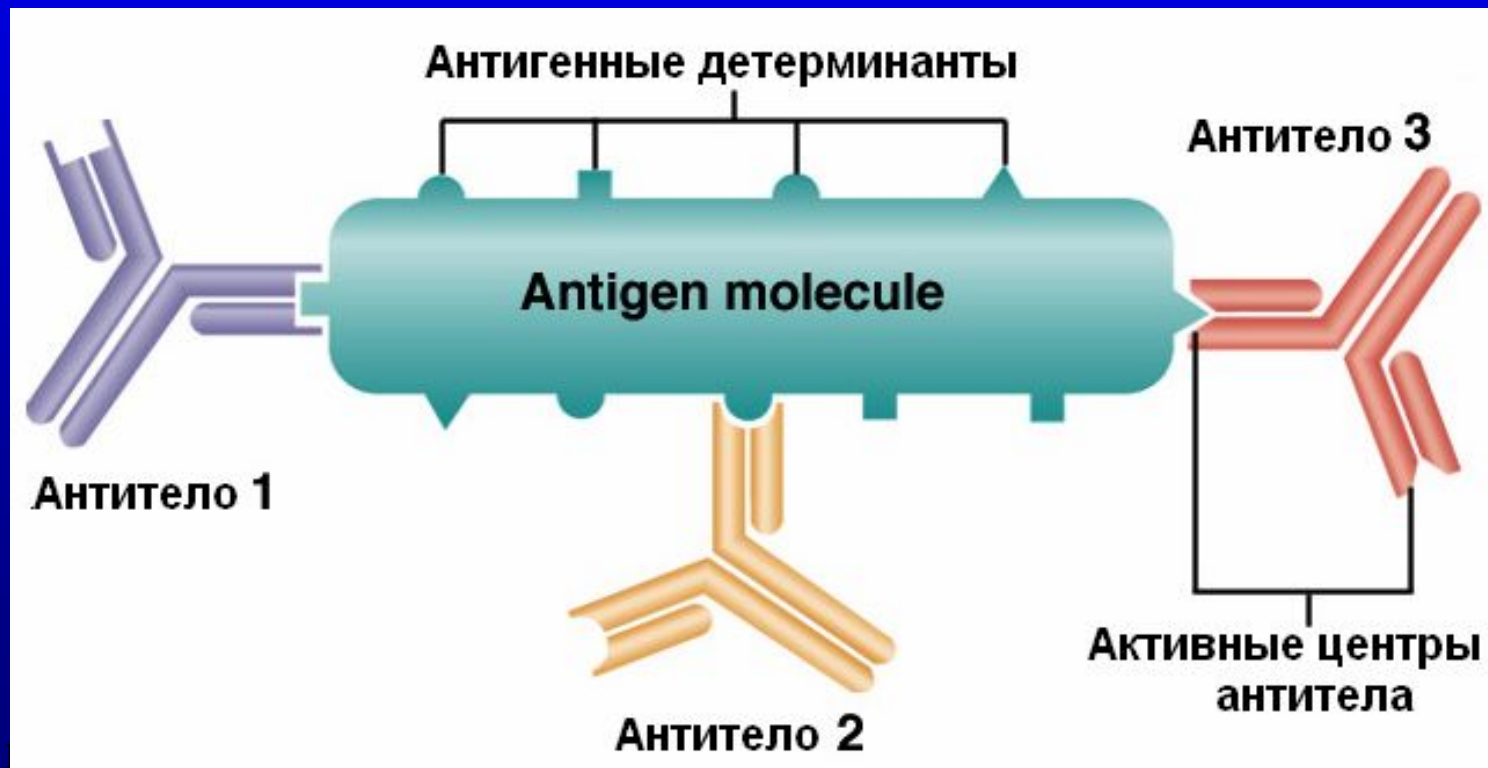
**Antibody**

World's Lar  
40,000+ an  
www.abnov

Совет: [Показать результаты только на русском языке](#). Вы можете задать язык поиска в разделе [Настройки](#).

## Антитела - обладают **уникальной специфичностью**.

Каждое антитело взаимодействует только со своим антигеном, точнее, **с одной** его антигенной детерминантой.

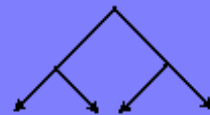
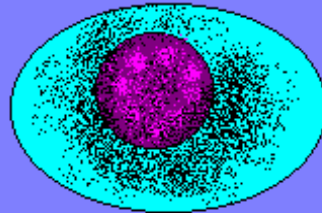


# Получение гибридом

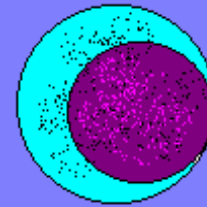
Кёлер и Мильштейн 1984



Миеломная клетка



В-лимфоцит

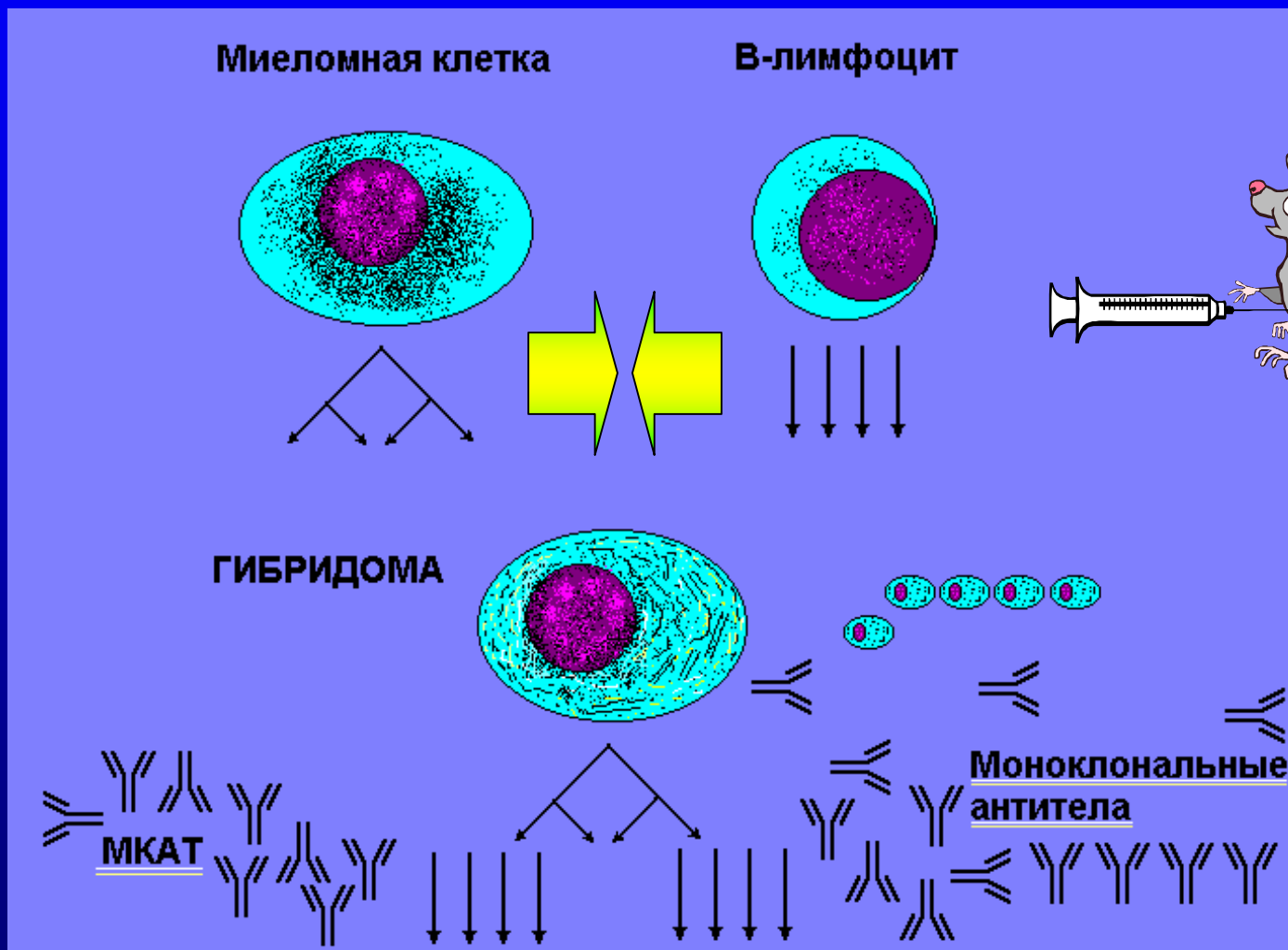


Способность **длительно размножаться** («бессмертные клетки»).

Продукция антител - **иммуноглобулинов.**

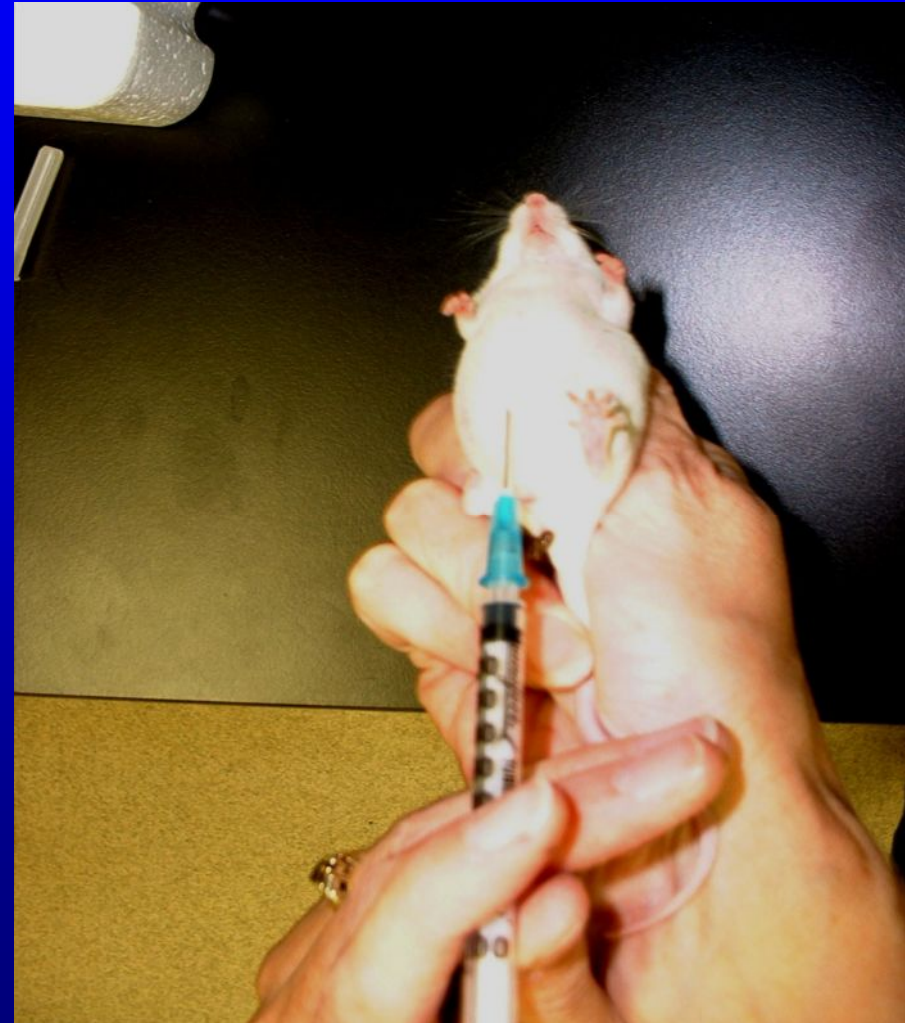
# Получение гибридомы

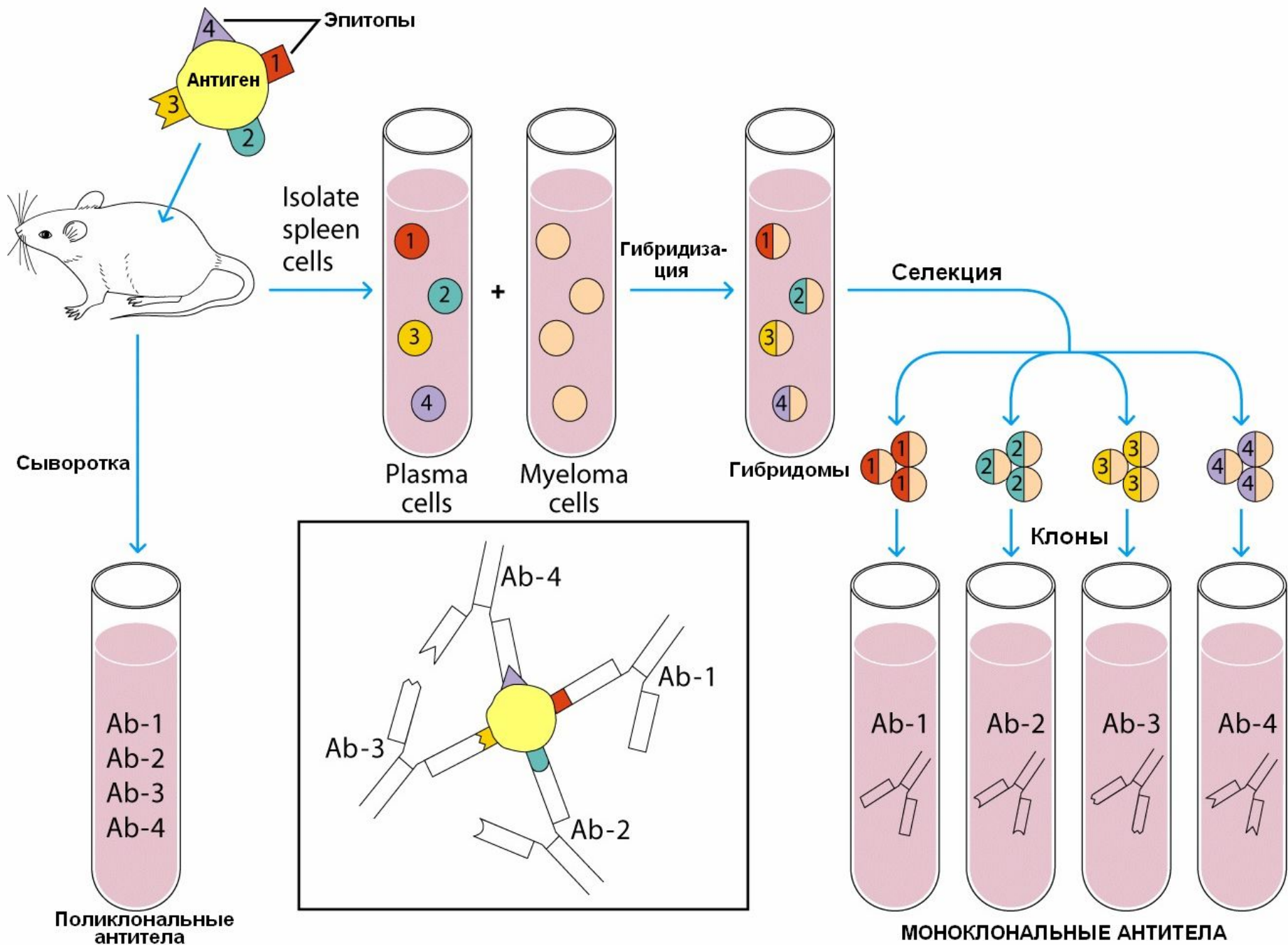
Кёлер и Мильштейн 1984



# Введение антигена мышке

- The mice are aseptically **inoculated** with the **antigen** combined with an **adjuvant**.
- Inoculations are done either **sub-cutaneously** or **intra-peritoneally**.
- Normal dose per mouse is between 50 and 100 **micrograms** of protein.
- Inoculations are performed every 21 to 28 days.





Видео:

- **Monoclonal Ab Production-Ok+++**





# МКАТ

моноклональные  
антитела



Моноклональные антитела чьи по  
происхождению?

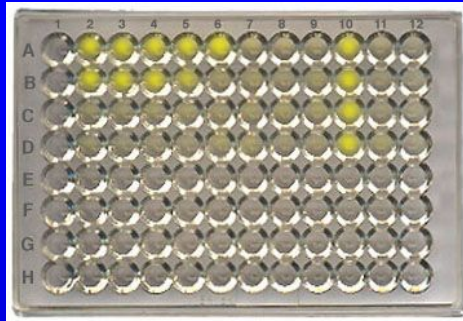
**Мышиные** ,

т.о. МКАТ - чужеродный для  
человека белок.

# МКАТ

- **МКАТ** получили широкое использование для диагностики.
- Моноклональные антитела из-за высочайшей специфичности, стандартности и технологичности получения успешно вытесняют и заменяют иммунные сыворотки.

# МКАТ используются в ИФА



Диагностика инфекций.

Определение гормонов.

Определение любых антигенов и антител.

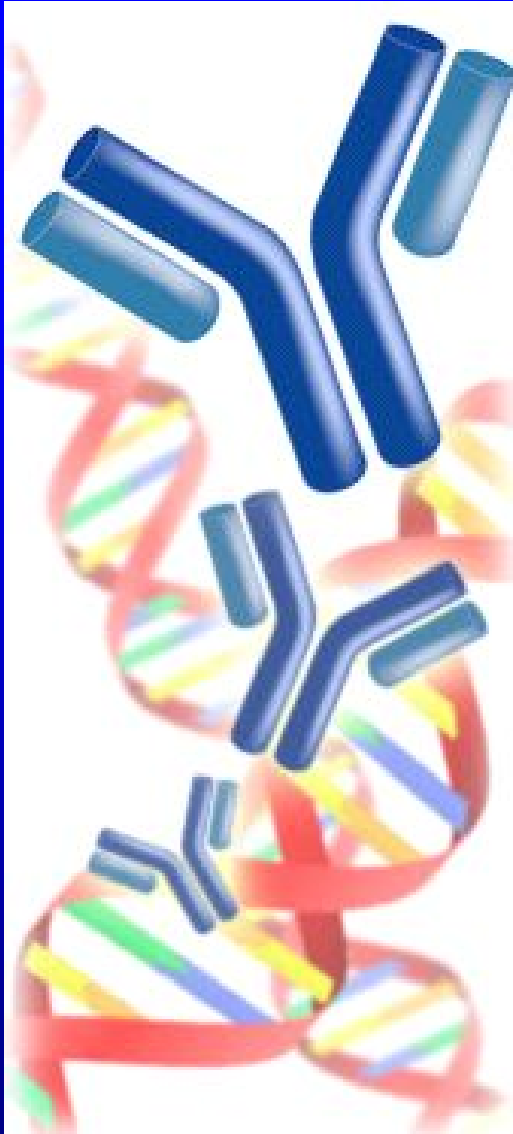
Высокая чувствительность



# ELISA

18.12.2010

*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*



# МКАТ

Поликлональные сыворотки  
заменяются на  
**моноклональные антитела**

- Определение групп крови,  
эритроцитарных антигенов

.....



18.12.2010

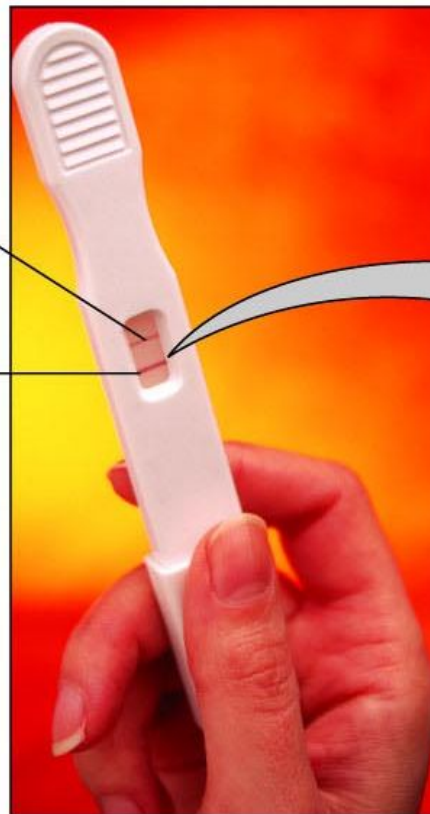
# Быстрые тесты на беременность,



Not pregnant

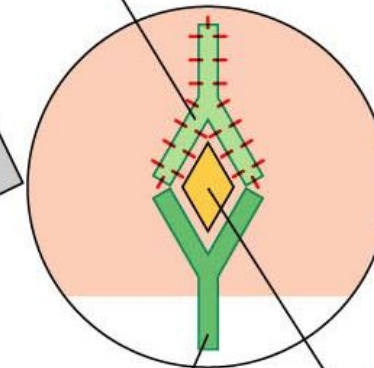
Control windows

Test windows



Pregnant

1 Free monoclonal antibody specific for hCG



2 Capture monoclonal antibody bound to substrate

3 Sandwich formed by combination of capture antibody and free antibody when hCG is present. Creates a color change.

**Быстрый  
тест на ВИЧ**

**Положительный  
результат  
HIV-1/2**

**Positive Negative**

**Контроль  
реактивов**



18.12.2010

**Результат через 20 – 40 минут**



**Быстрый  
тест на ВИЧ**

18.12.2010



# Быстрый тест на ВИЧ

с использованием  
цельной крови

1 капля



# Быстрый тест на ВИЧ

с использованием  
цельной крови



18.12.2010 **4 капли разбавляющего раствора**

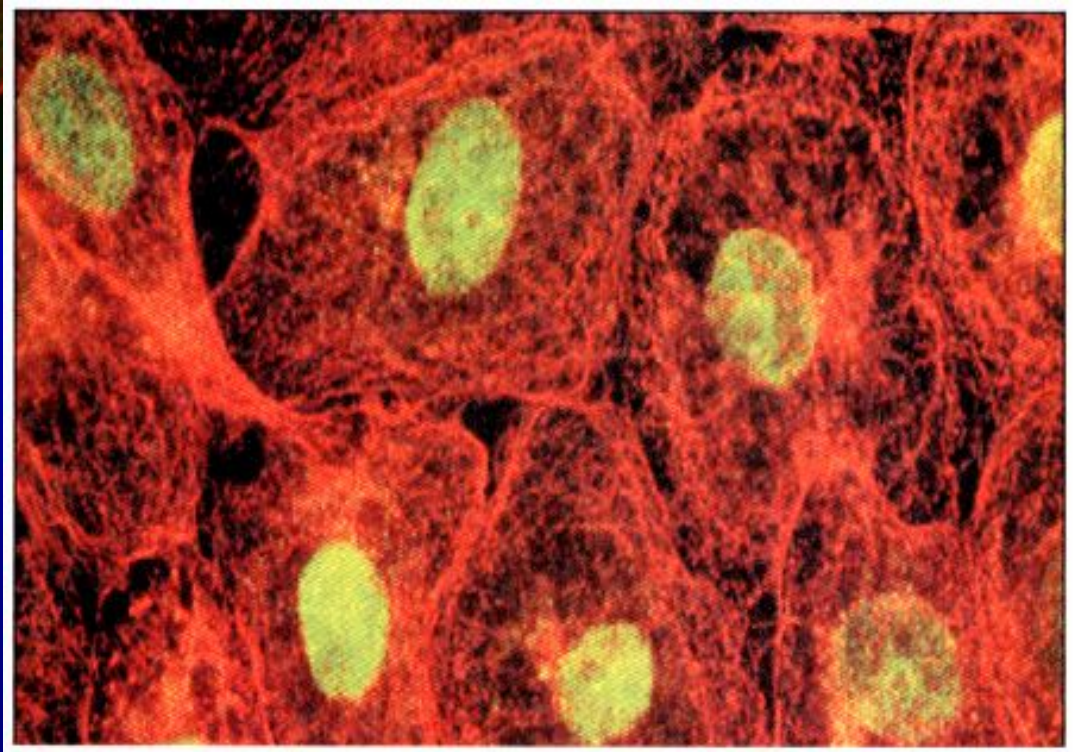
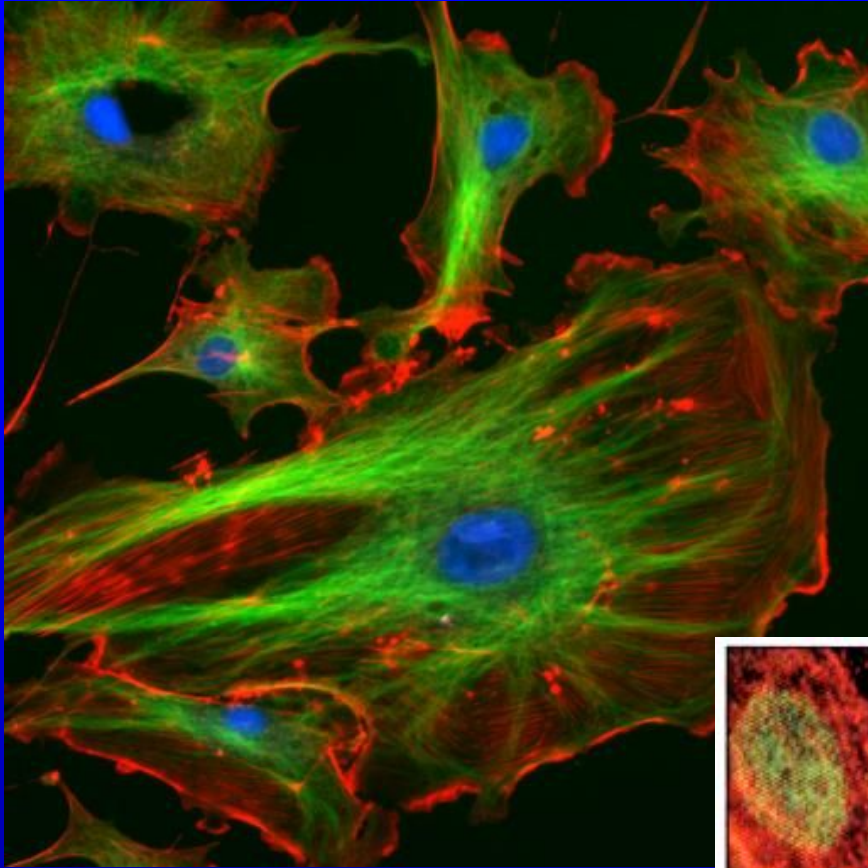


**Чтение результата через 10 -12 минут**



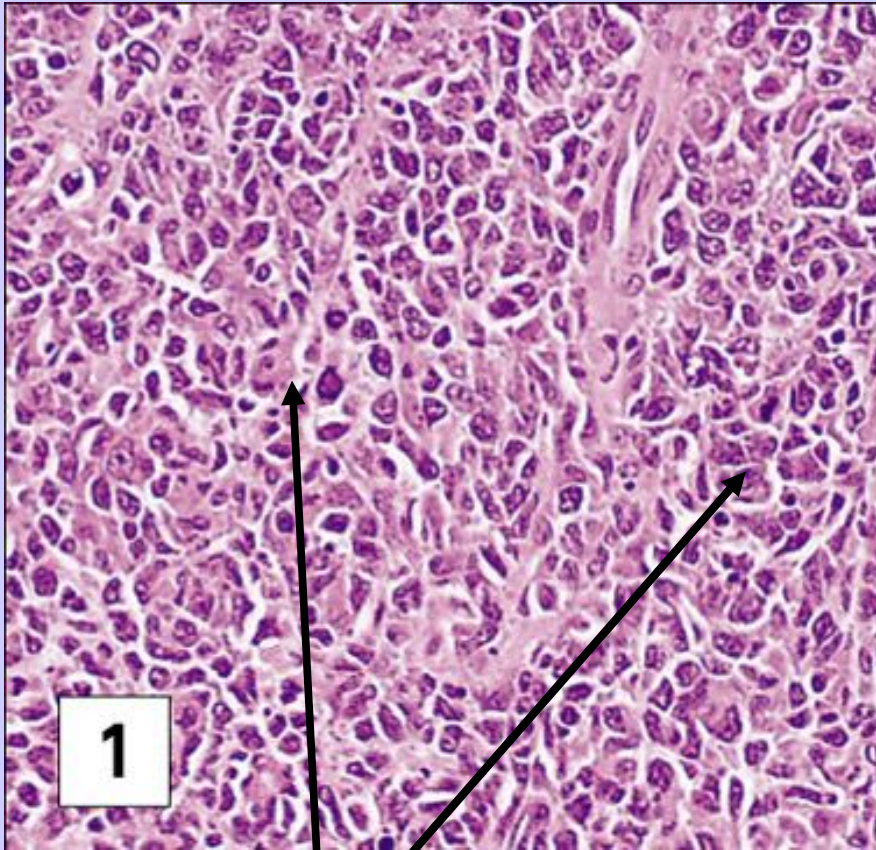
# МКАТ

- **Иммунофенотипирование клеток**  
(лимфоцитов Т-, В-, НК-клеток ... ..)

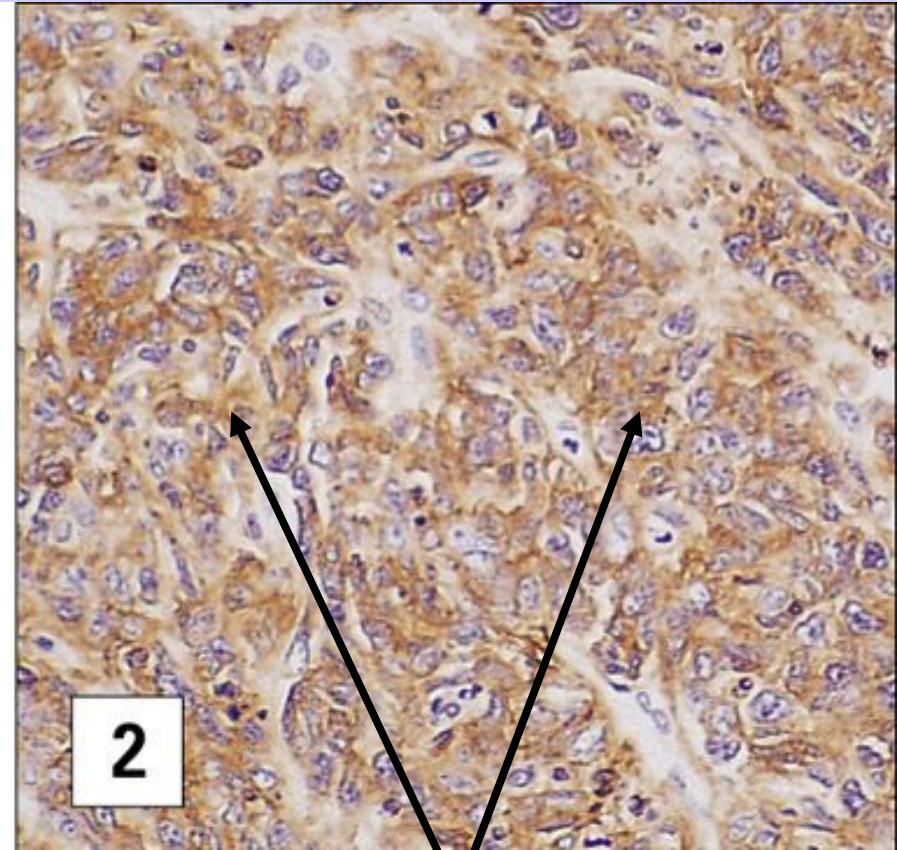


18.12.2010

## Идентификация клеток в недифференцированных опухолях



Неидентифицированные  
опухолевые клетки



МкАТ к В клеточному маркеру  
(CD20) меченные ферментом =  
**B cell lymphoma**

**МКАТ**

**В диагностике  
лейкозов !!!**

18.12.2010

# Применение МКАТ

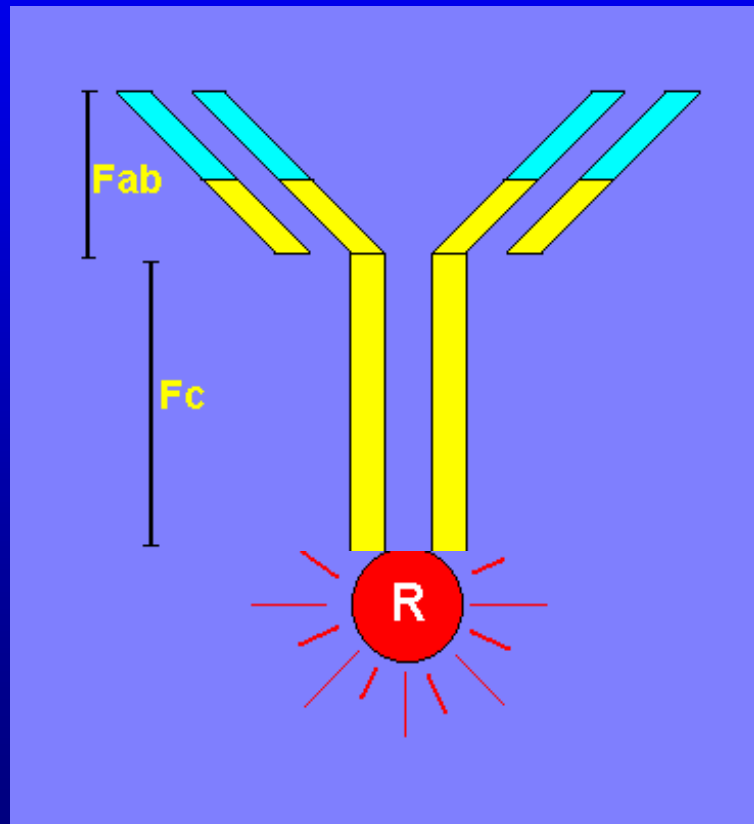
Используют для диагностики  
и типирования опухолей.



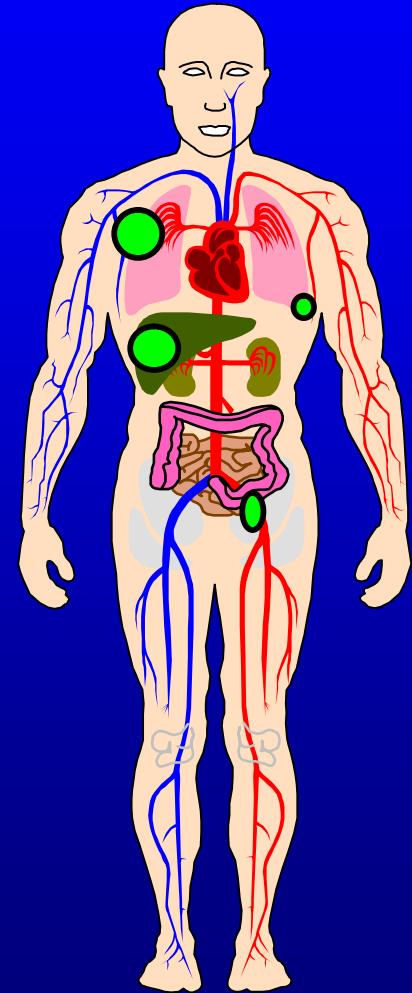
# Применение МКАТ

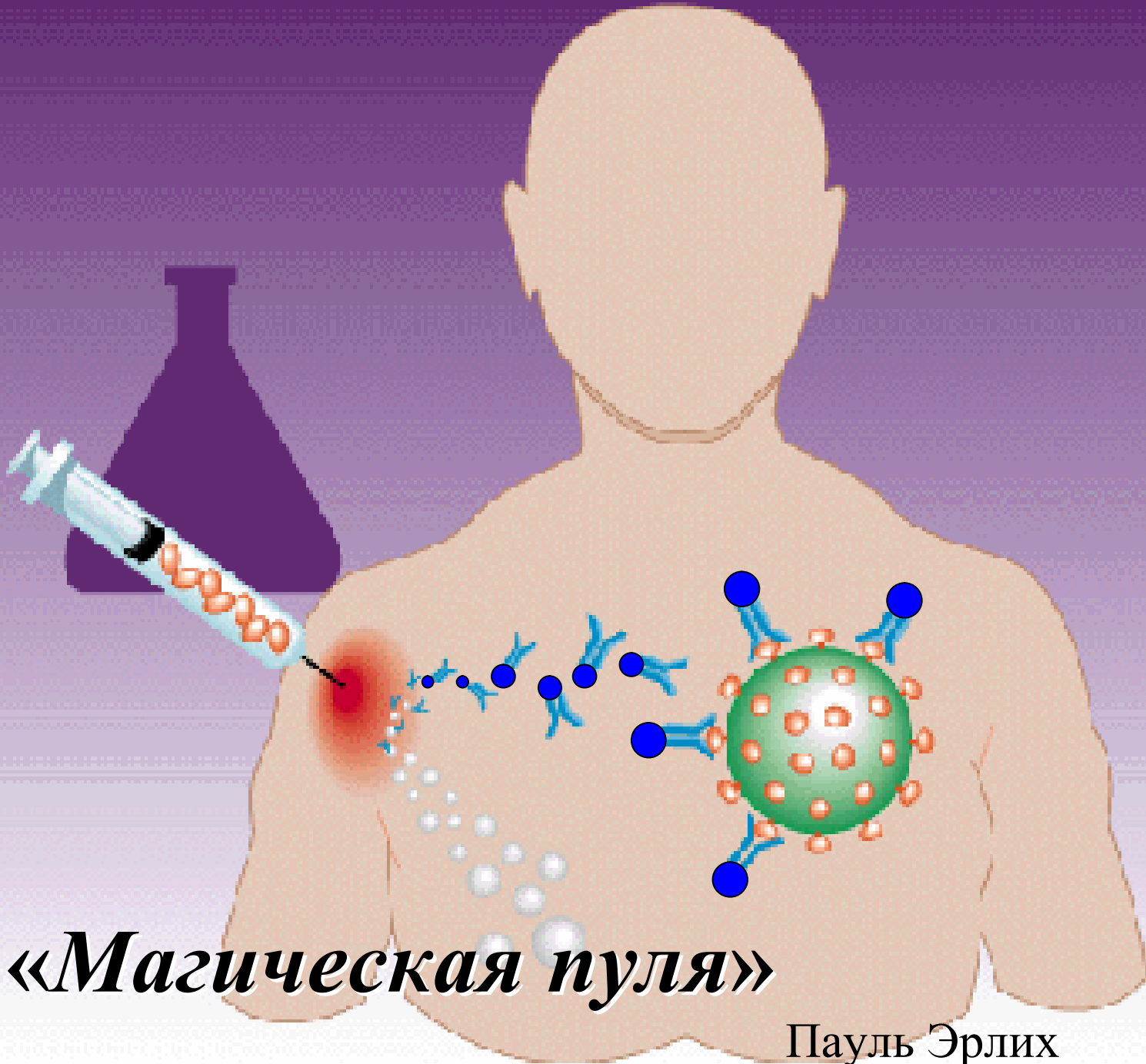
Позволяют обнаружить небольшие узелки *опухоли* или *метастазы* по **локализации** в них радиоактивности если антитела связать с изотопом.

# МАТ - иммунолокализация опухолей, радиоиммунотоксины



- Диагностика -  
**иммуно-**  
локализация
- **Лечение**  
опухолей

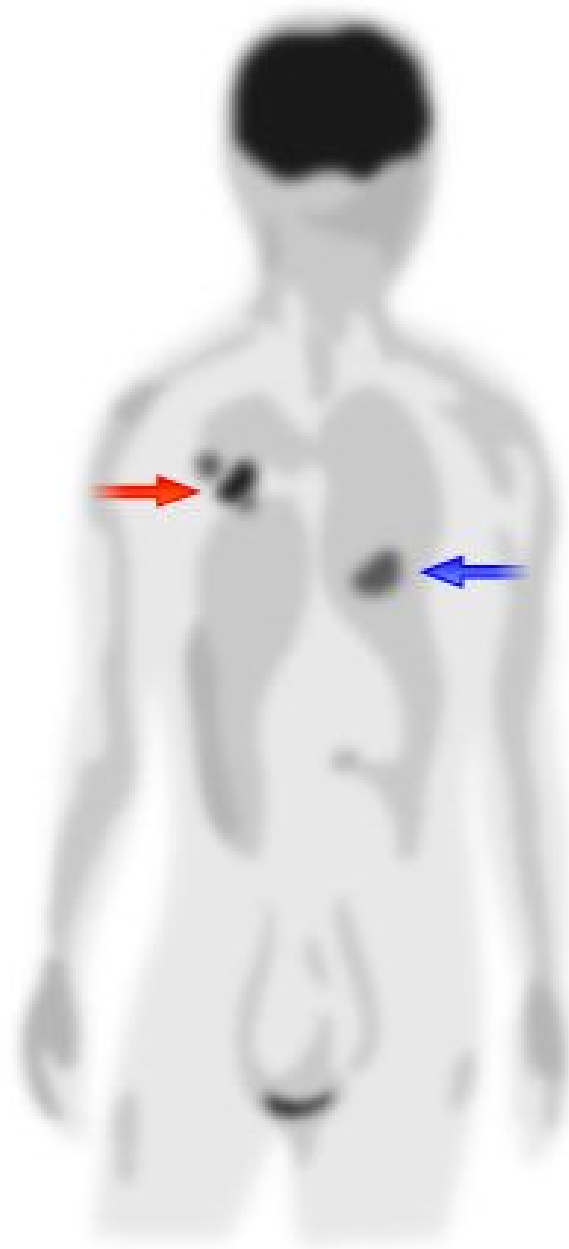




*«Магическая пуля»*

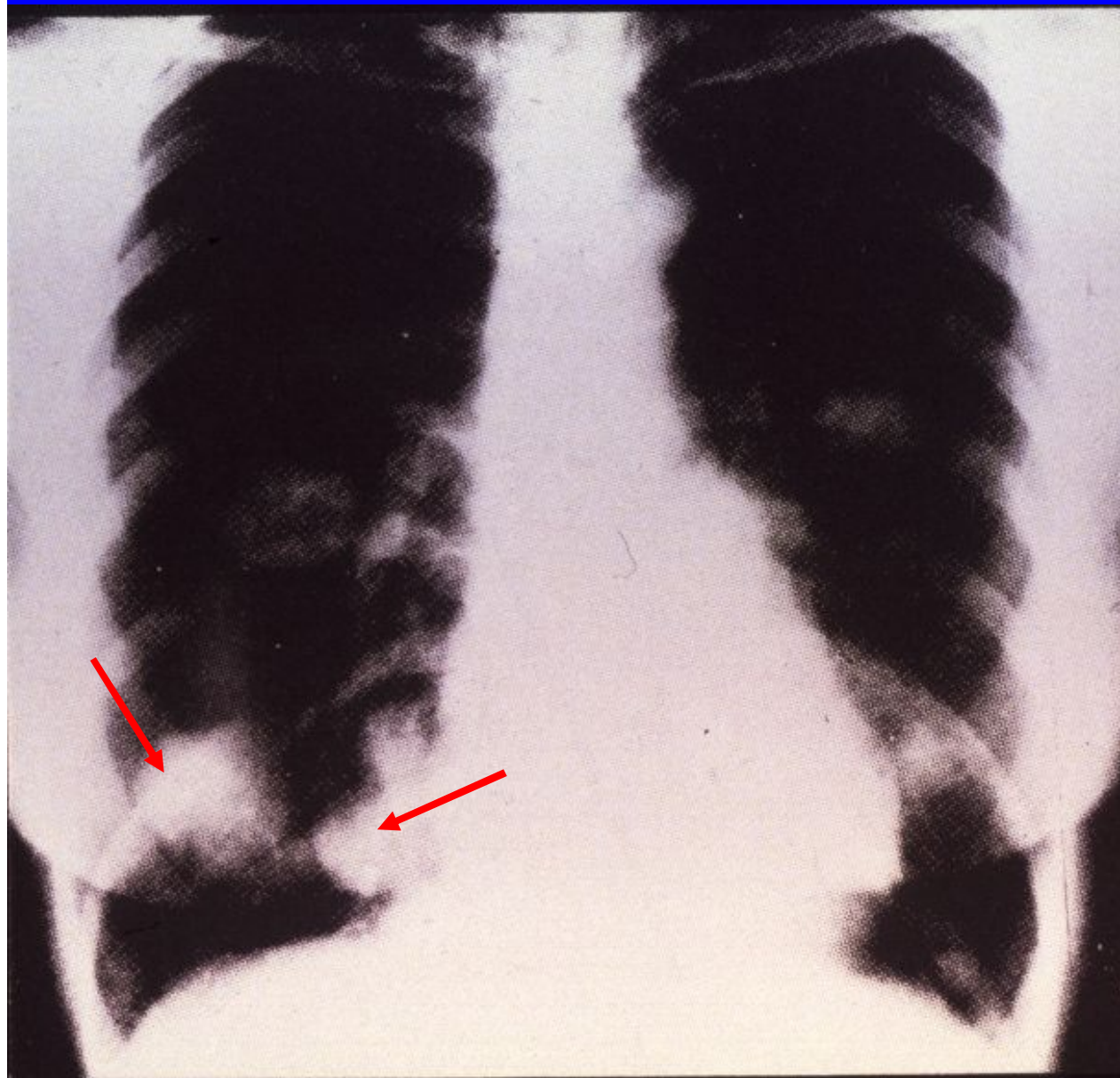
Пауль Эрлих

# Сцинтиграфия



18.12.2010

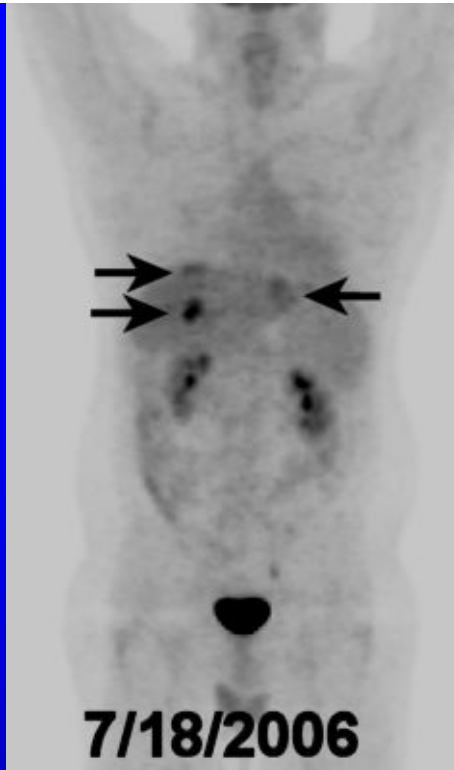
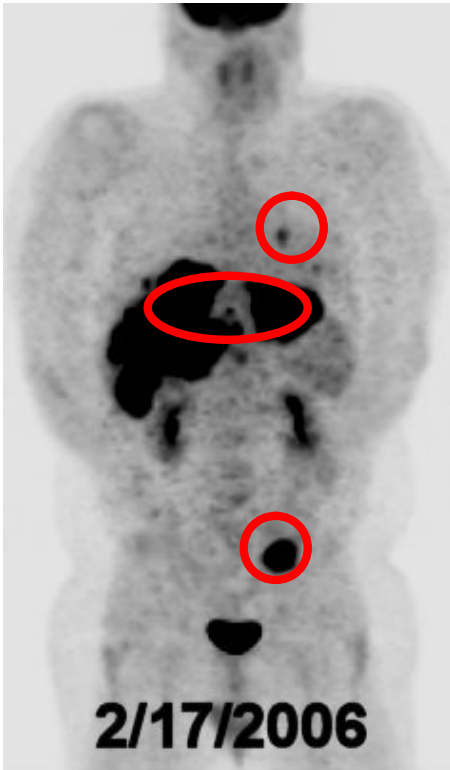
# Carcinoma of the Colon



18.12.2010

Chest radiograph showing lung metastases

Immunoscintigraphy



# Иммунотоксины Иммуноконъюгаты

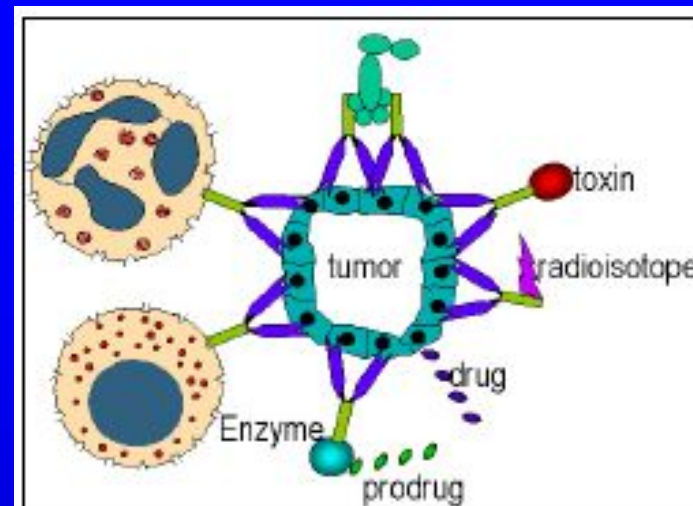
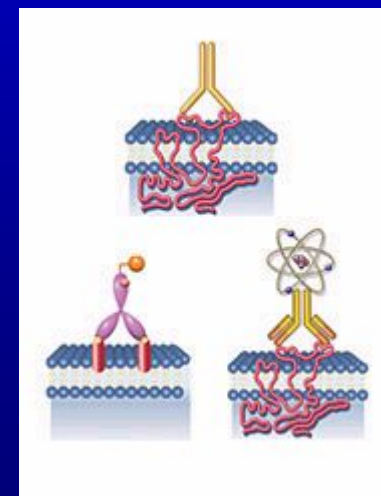


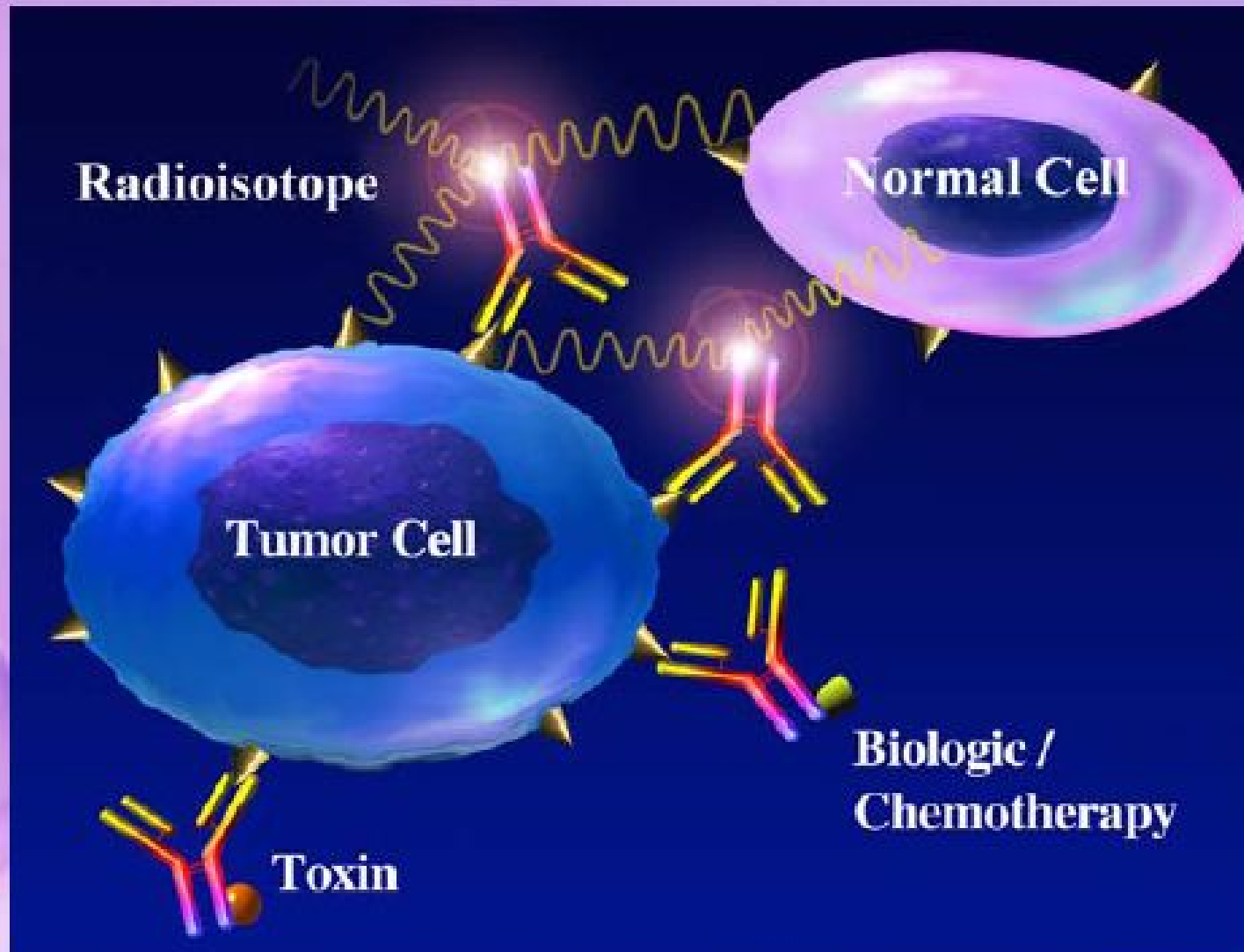
Figure 3. Therapeutic and diagnostic uses of anti-tumor antibodies

- МКАТ + радиоактивный изотоп;
- МКАТ + токсин (рицин, абрин);
- МКАТ + химиопрепарат.

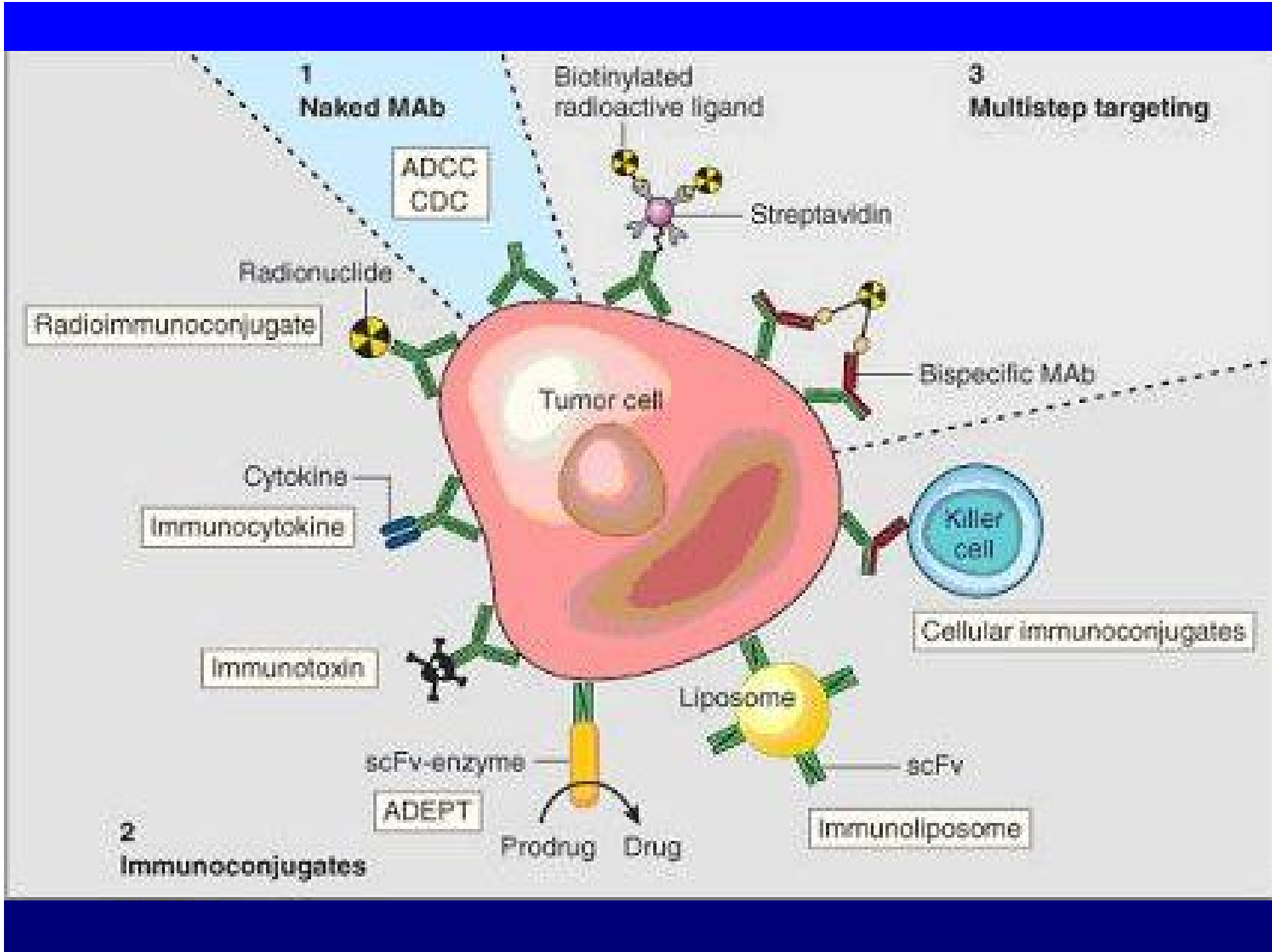
**Противоопухолевые антитела**



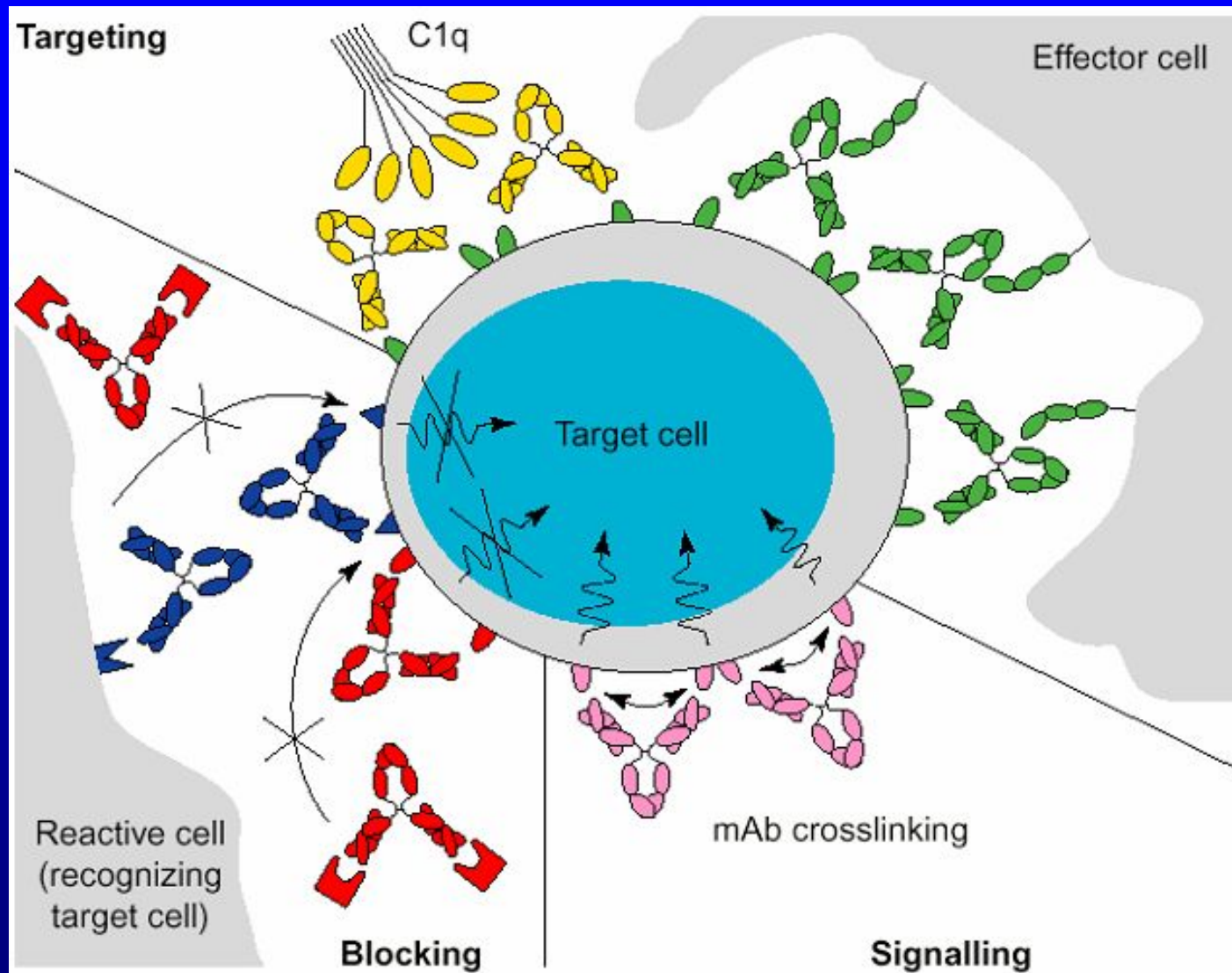
# Monoclonal Antibodies: Conjugated







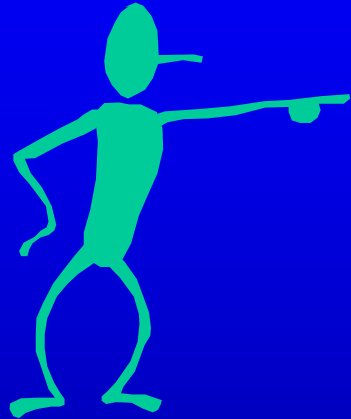
# Новые терапевтические антитела



# Продолжение

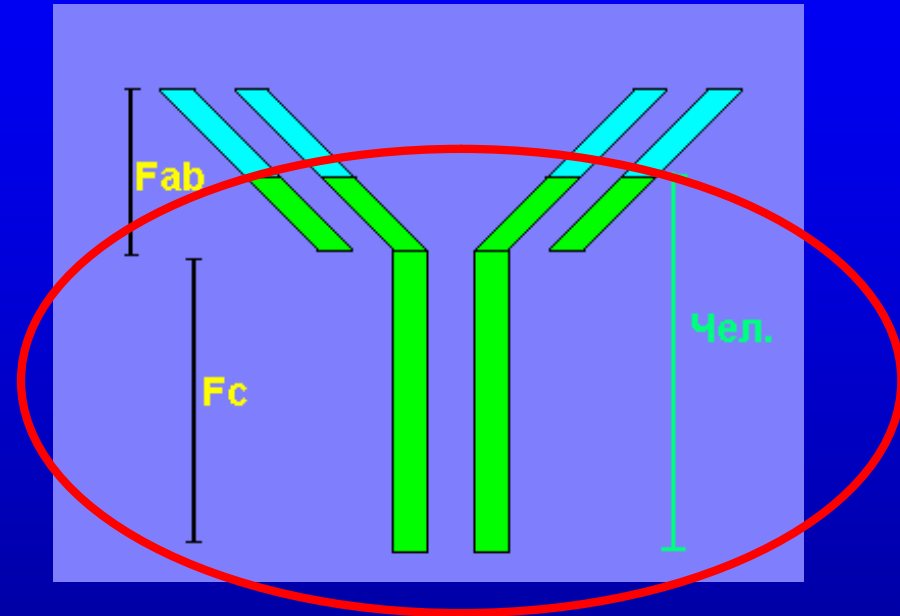
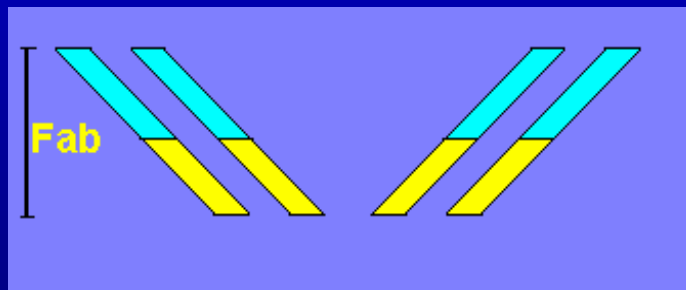
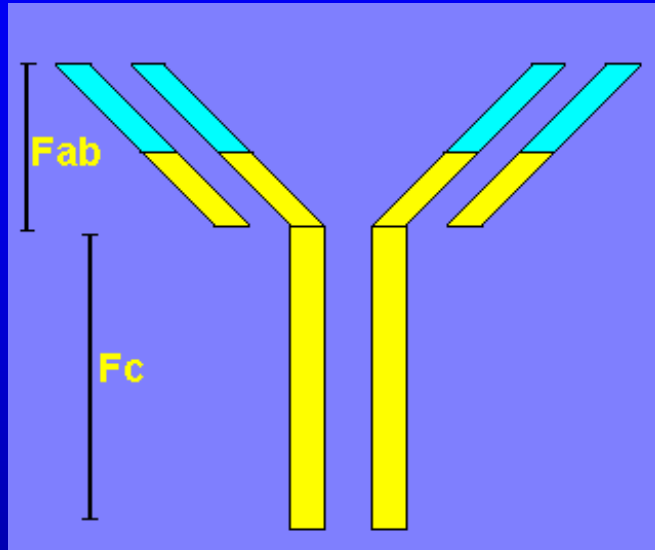
18.12.2010

**Один из основных недостатков -  
высокая иммуногенность  
мышиних Мат.**



Как уменьшить  
иммуногенность?

# Гуманизация МКАТ

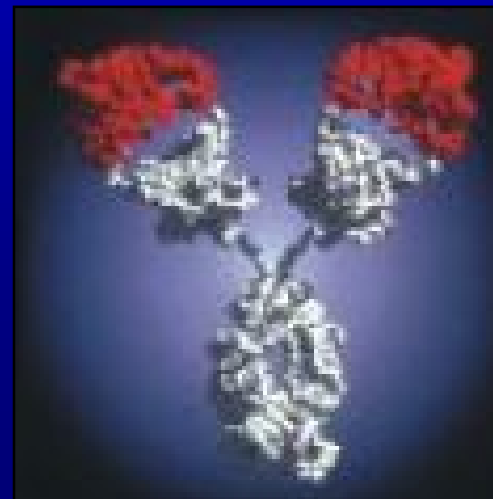
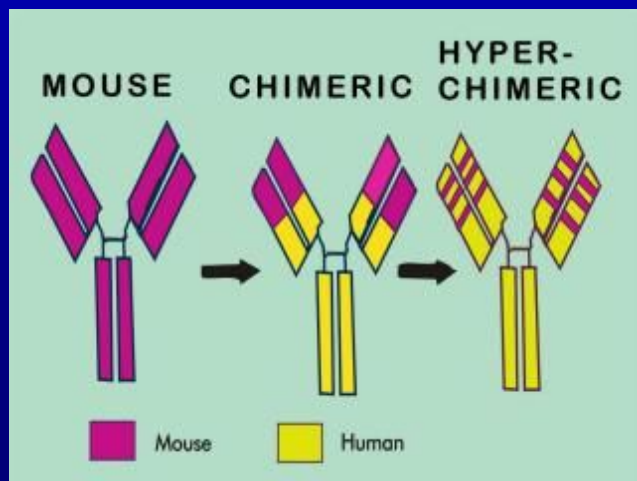


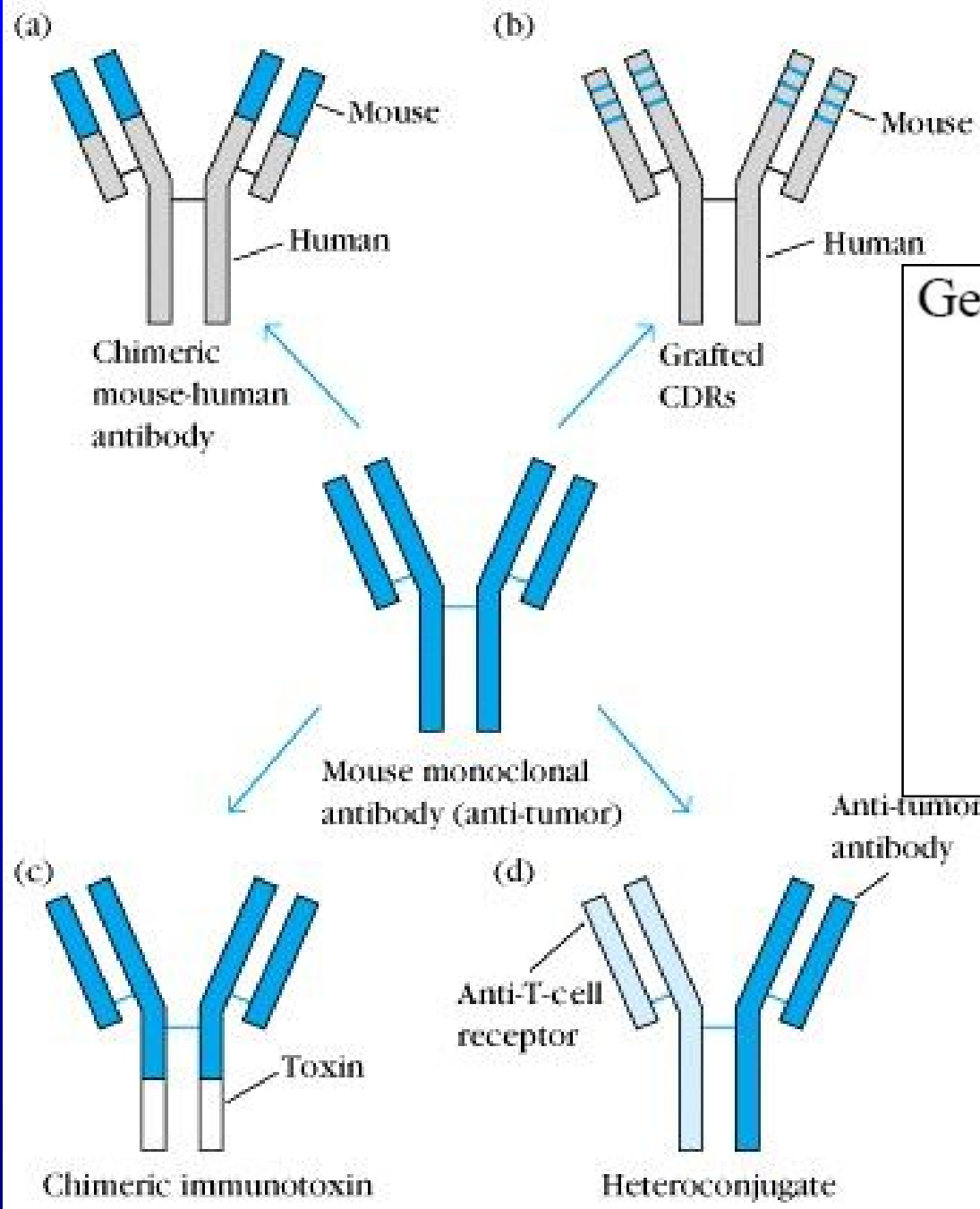
- Химерные АТ
- Значительное снижение иммуногенности.

# Гуманизированные МКАТ

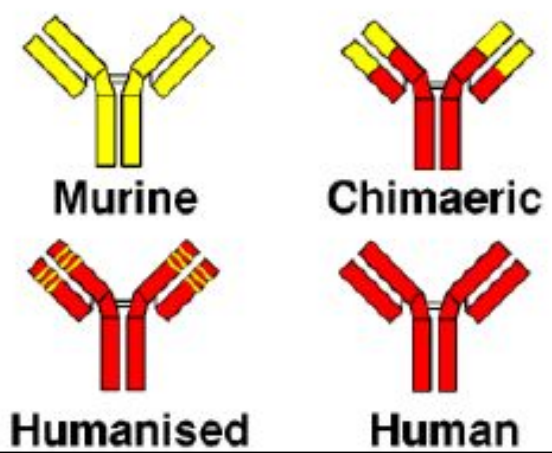
созданы и применяются с  
лечебной целью!

Они могут вводиться в организм  
человека множественно.





## Genetic engineering of antibodies



# Терапевтические моноклональные антитела

**26** – применяются в клинической  
практике;

**200** – проходят клинические  
испытания;

**600** – проходят доклинические  
испытания.



В настоящее время в широкую клиническую практику вошел целый ряд противоопухолевых препаратов моноклональных антител (МКА).

Принципиальным отличием МКА от химиопрепаратов является

избирательность повреждающего воздействия на клетки-мишени при минимальном негативном влиянии на нормальные ткани и органы хозяина.

Наиболее исследованным и широко применяемым в клинической онкогематологии является **мабтера** – препарат, производимый компанией "F.Hoffmann-La Roche Ltd".

А.Я.Курильников Современная онкология, 2002

18.12.2010

# Ритуксимаб (мабтера)



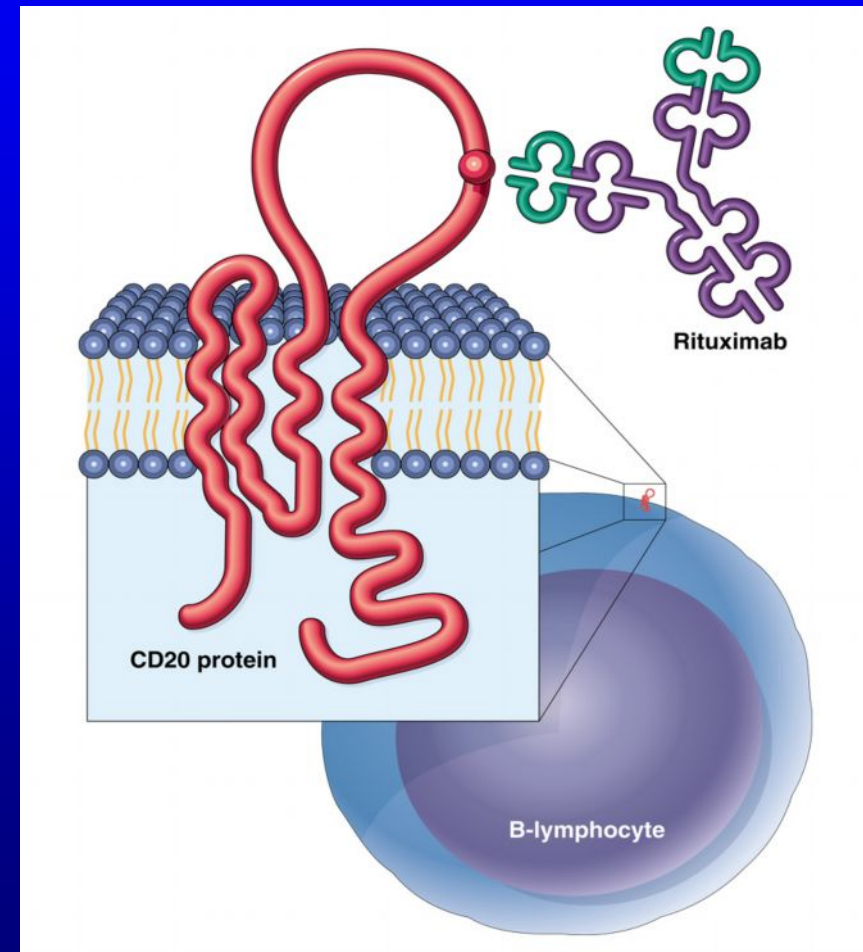
- **Ритуксимаб (Ритуксан, Мабтера)** представляет собой гуманизированные **МКАТ против CD20<sup>+</sup> > (лимфомы).**

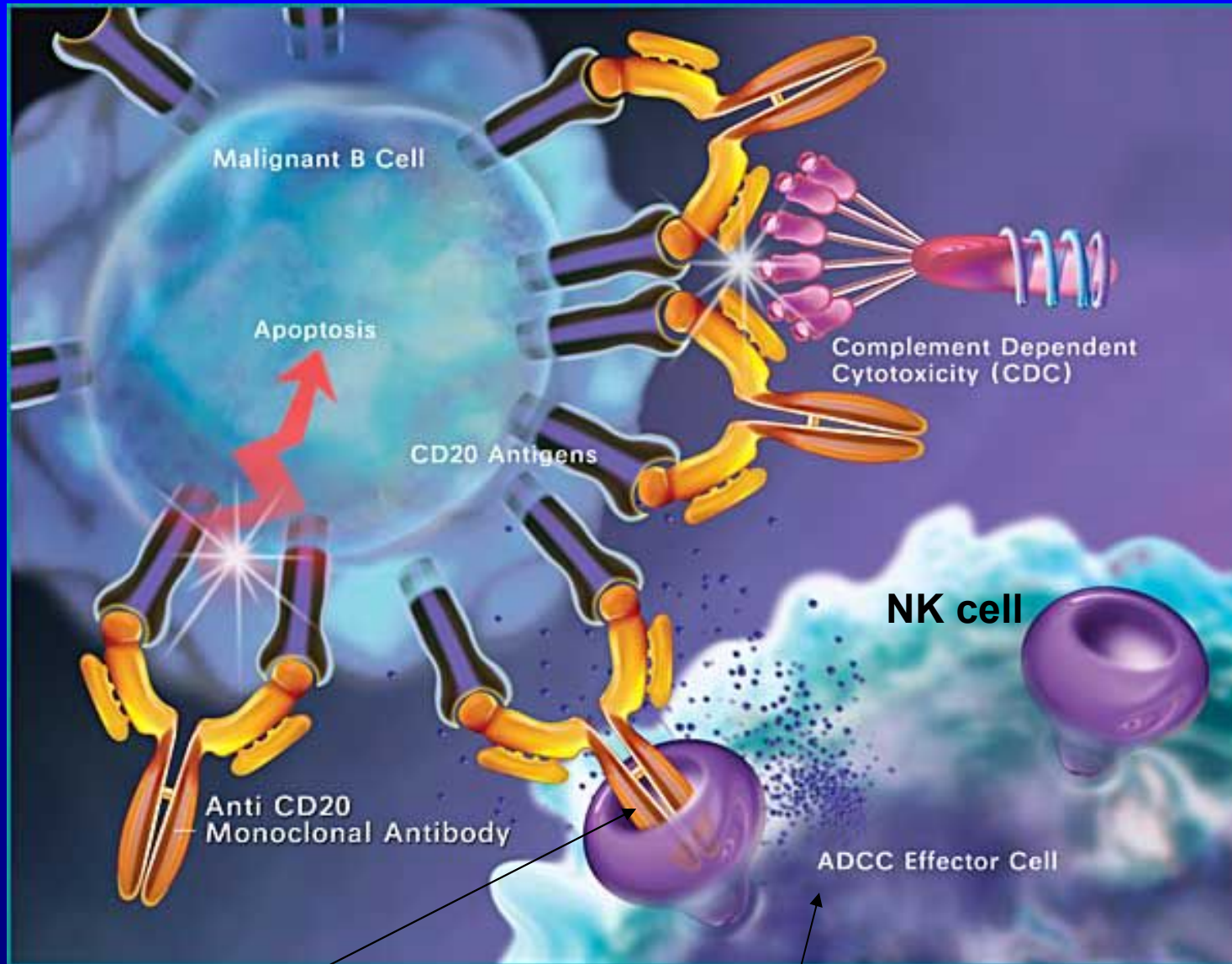
Механизм действия Ритуксана связан с развитием опосредованной антитело–зависимой клеточной и комплемент–зависимой цитотоксичности, что вызывает апоптоз в клетках лимфомы и нормальных лимфоцитах, **CD20 положительных.**

# Rituximab: B-cell Depletion

- **Genetically engineered chimeric murine/human monoclonal antibody**
  - Variable light- and heavy-chain regions from murine anti-CD20 antibody IDEC-2B8
  - Human IgGk constant regions
- **First monoclonal antibody to be approved by the FDA for treatment of cancer**

18.12.2010





18.12.2010

**Fc region**

**ADCC = antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity**

**Genentech**

**Мабтера (ритуксимаб)** – первые в мире МКА, созданные для лечения **неходжкинских лимфом (НХЛ), ХЛЛ, В-лимфом.**

Структура: ритуксимаб – химерные человеческо-мышинные антитела, специфичные к **CD20-антигену**, экспрессируемому В-лимфоцитами. По структуре ритуксимаб относится к иммуноглобулинам класса G1, причем его молекула имеет мышинные **Fab-фрагменты** и человеческий **Fc-фрагмент**.

Благодаря своей структуре **мабтера**  
даже при повторных курсах терапии  
крайне редко может вызывать  
образование антихимерных антител в  
организме реципиента.

*... при обследовании 355 больных,  
получивших ритуксимаб в 7 различных  
клинических исследованиях,  
образование антихимерных антител  
было отмечено **лишь у 3 (0,8%)**  
**больных.***

# Терапевтические МКАТ в онкологии

Таблица 1. Моноклональные антитела в клинической практике

Препарат	Описание
<i>Препараты, разрешенные к клиническому использованию</i>	
Трастузумаб (Герцептин)	Гуманизированное МКА против HER2/neu рецептора
Ритуксимаб (Ритуксан, Мабтера)	Гуманизированное МКА против CD20 антигена на поверхности В-лимфоцитов
Бексар	Мышиное МКА против CD20, конъюгированное с J131
Ибритумомаб (Зевалин)	Гуманизированное МКА против CD20 антигена на поверхности В-лимфоцитов, конъюгированное с Y <sup>90</sup>
<i>Препараты, находящиеся в III фазе клинических испытаний</i>	
Алемпузумаб (Кампат)	Гуманизированное МКА против CD52 антигена
Цетуксимаб (С225)	МКА против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR, HER1)
Бевацизумаб (Авастин)	Гуманизированное МКА против фактора роста эндотелия сосудов (VEGF)
Р3Авак	МКА против Р3А
Линтузумаб (Lintuzumab, Zanuj, HuM195)	МКА против CD33 антигена
<i>Препараты, находящиеся в I-II фазах клинических испытаний</i>	
Епратузумаб	Гуманизированное МКА против CD22 антигена
Hu1D10	Гуманизированное МКА к антигену гистосовместимости HLA-DR
Hu1D10-J <sup>121</sup>	Гуманизированное МКА к антигену гистосовместимости HLA-DR, конъюгированное с йодом J <sup>121</sup>
Витаксин	МКА к $\alpha\beta_3$ интегрину

18.12.2010

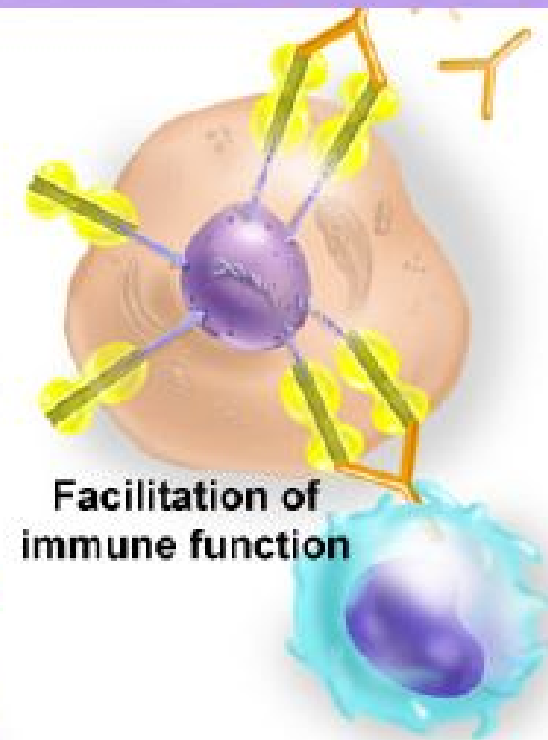
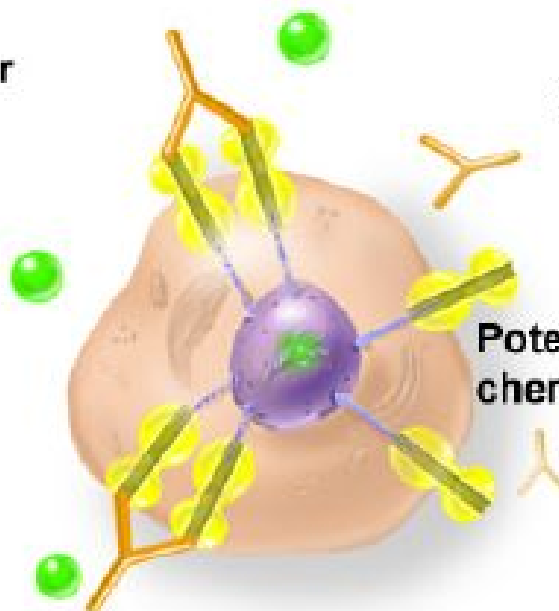
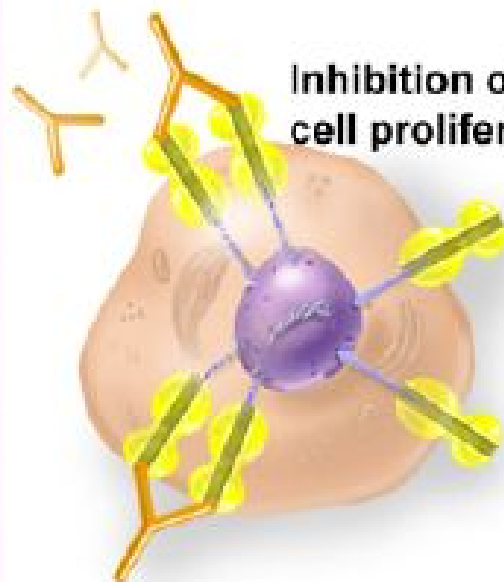


# Герцептин

- **Трастузумаб (Герцептин)** – рекомбинантное МКА, которое связывается с рецептором HER2/neu на поверхности опухолевых клеток многих солидных опухолей.
- **Герцептин** высокоэффективен при самостоятельном применении в лечении запущенного рака молочной железы.

# Trastuzumab: Potential Mechanisms of Action

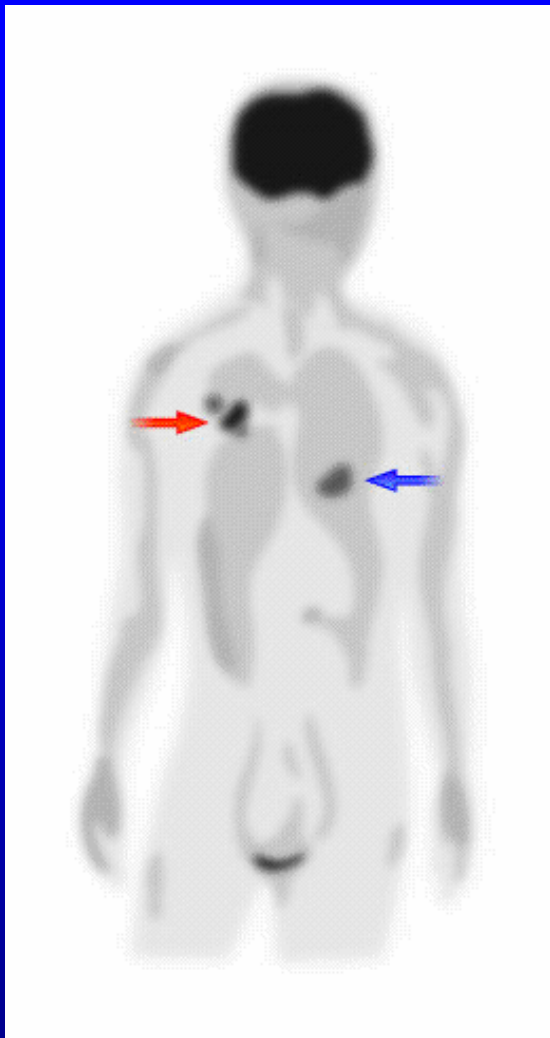
- **Binds to HER2 receptor**
- **Potential mechanisms of action**
  - Inhibits proliferation of tumor cells
  - Sensitizes cells to chemotherapy
  - Kills cells by recruiting other immune cells



Herceptin® (Genentech)

# Радиоиммунотоксины

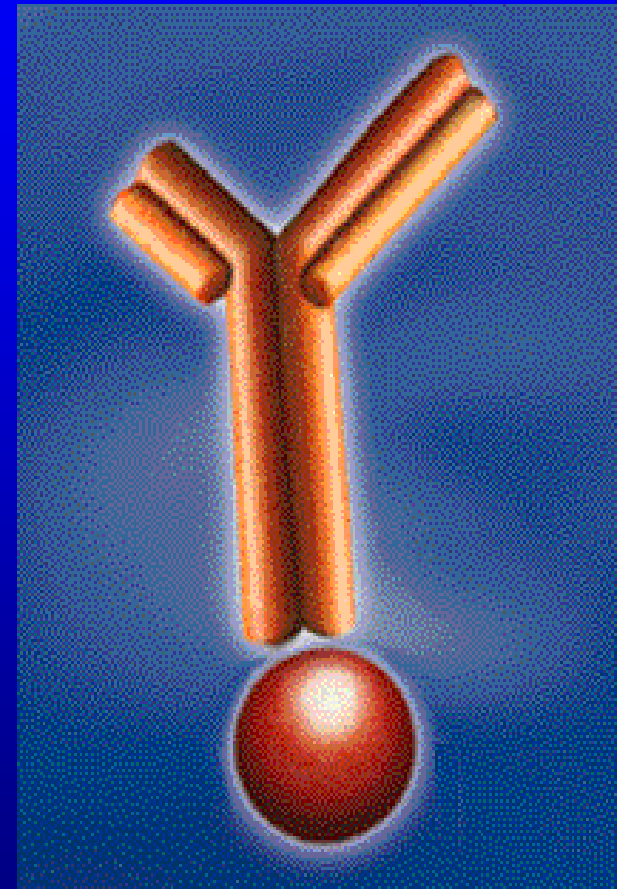
- **Ибритумомаб (Зевалин)** является конъюгатом Мабтеры с радиоактивным изотопом иттрия–90 (Y90).
- **Бексар (J131Tositumomab, Веххар)** – конъюгат мышиного МКА против CD20 антигена с радиоактивным изотопом йода J131.

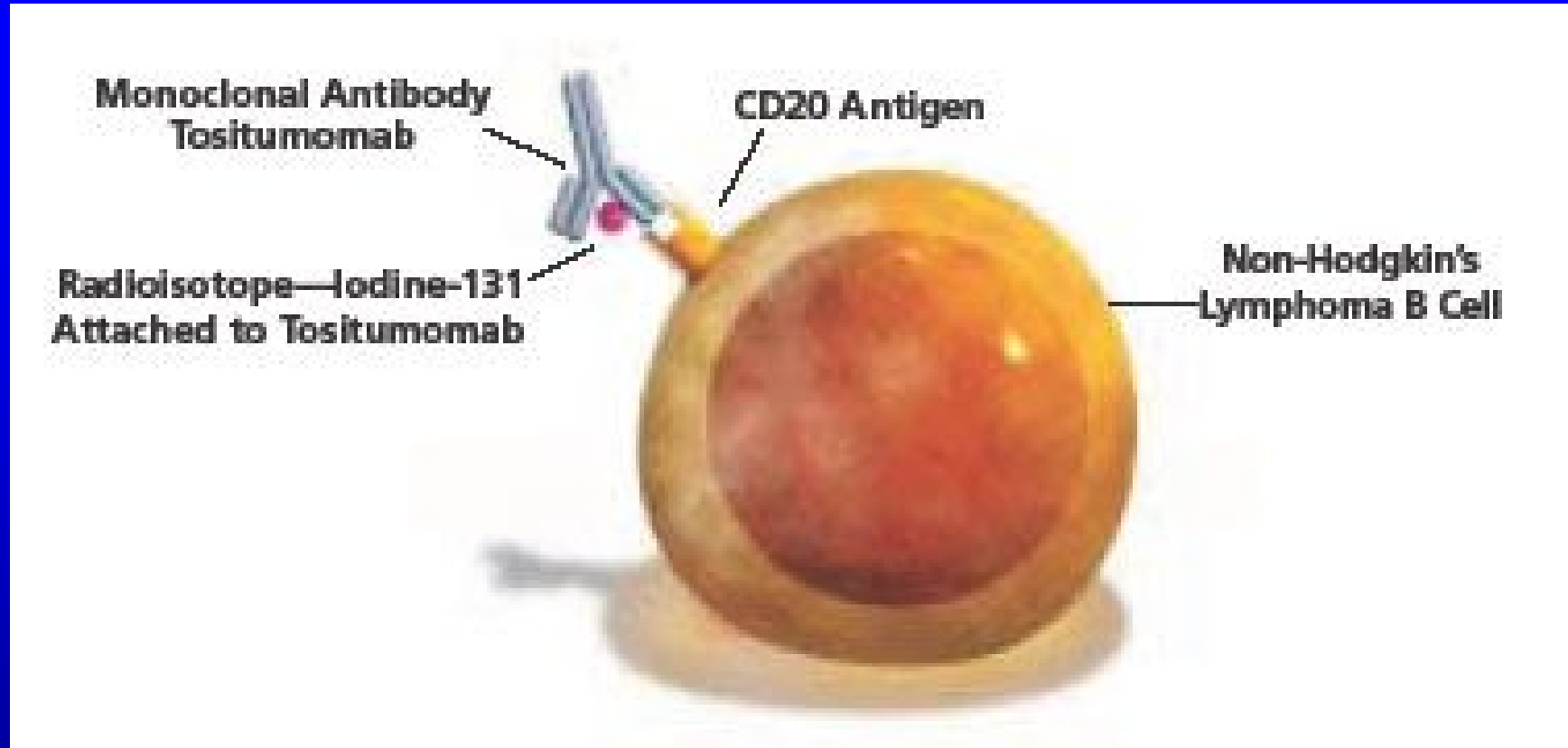


**Scan**

**Bexxar**  
( **$^{131}\text{I}$  tositumomab**)  
is a radiolabeled  
anti-CD20  
monoclonal  
antibody

**Bexxar<sup>®</sup>**



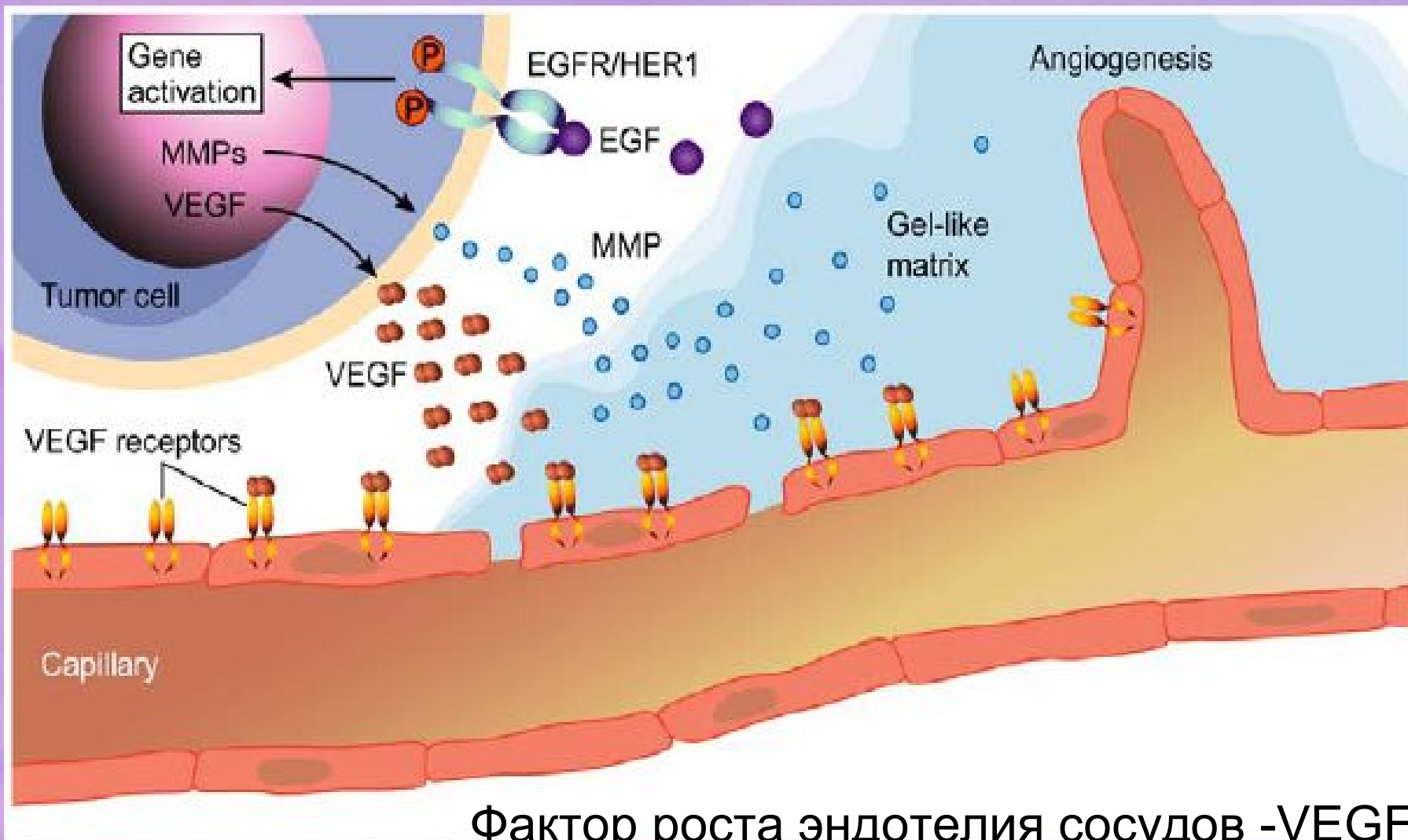


# Антиангиогенные препараты

- **Ангиогенез!!!**

L01\_4\_Onko\_angiogenesis\_wmv

# Angiogenesis



Фактор роста эндотелия сосудов - VEGF

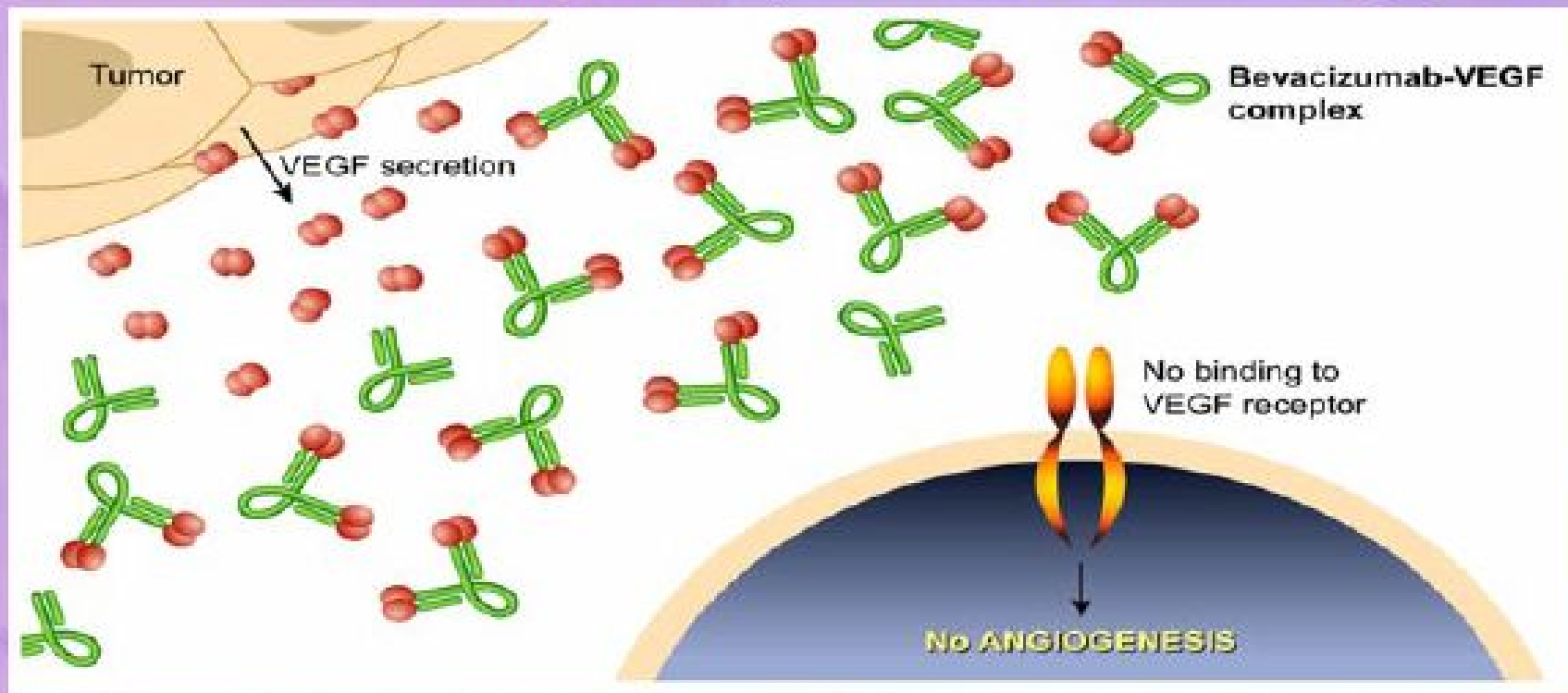
# *Антиангиогенные препараты*

- **Витаксин** (Vitaxin) представляет собой МКАТ к **αvβ3–интегрину**, экспрессирующемуся на поверхности активированных эндотелиальных клеток.
- **Бевацизумаб** (**Авастин**, **Bevacizumab**) – гуманизированное МКАТ против **фактора роста эндотелия сосудов (VEGF)**. Распознает все изоформы VEGF, но не связывается с другими ангиогенными факторами, такими как факторы роста фибробластов, тромбоцитарный фактор роста и др.



# Bevacizumab (Avastin™): Targeting VEGF

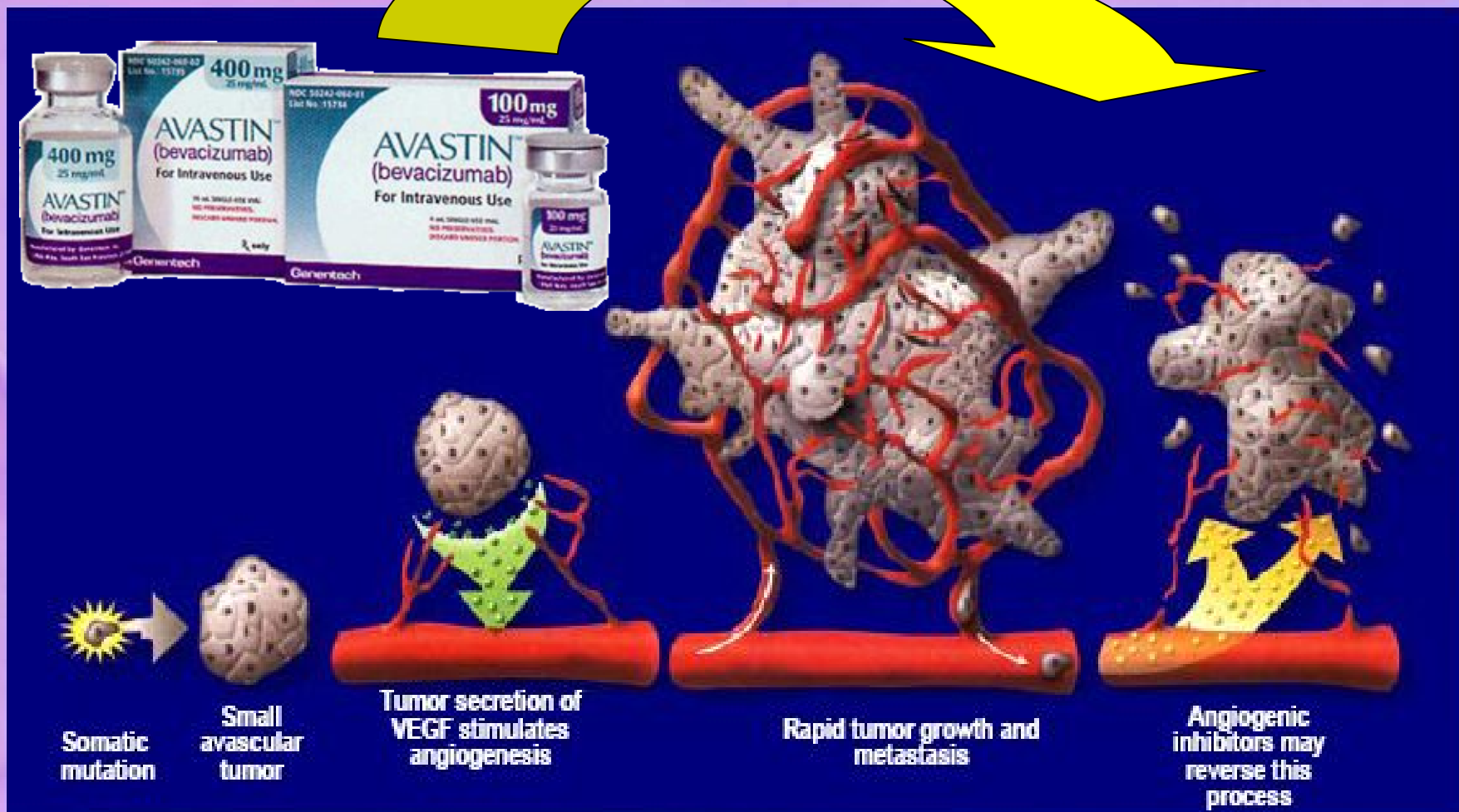
- ❖ 93% human, 7% murine
- ❖ Binds to VEGF with high affinity
- ❖ Prevents VEGF from binding to its receptors, inhibits VEGF induced angiogenesis



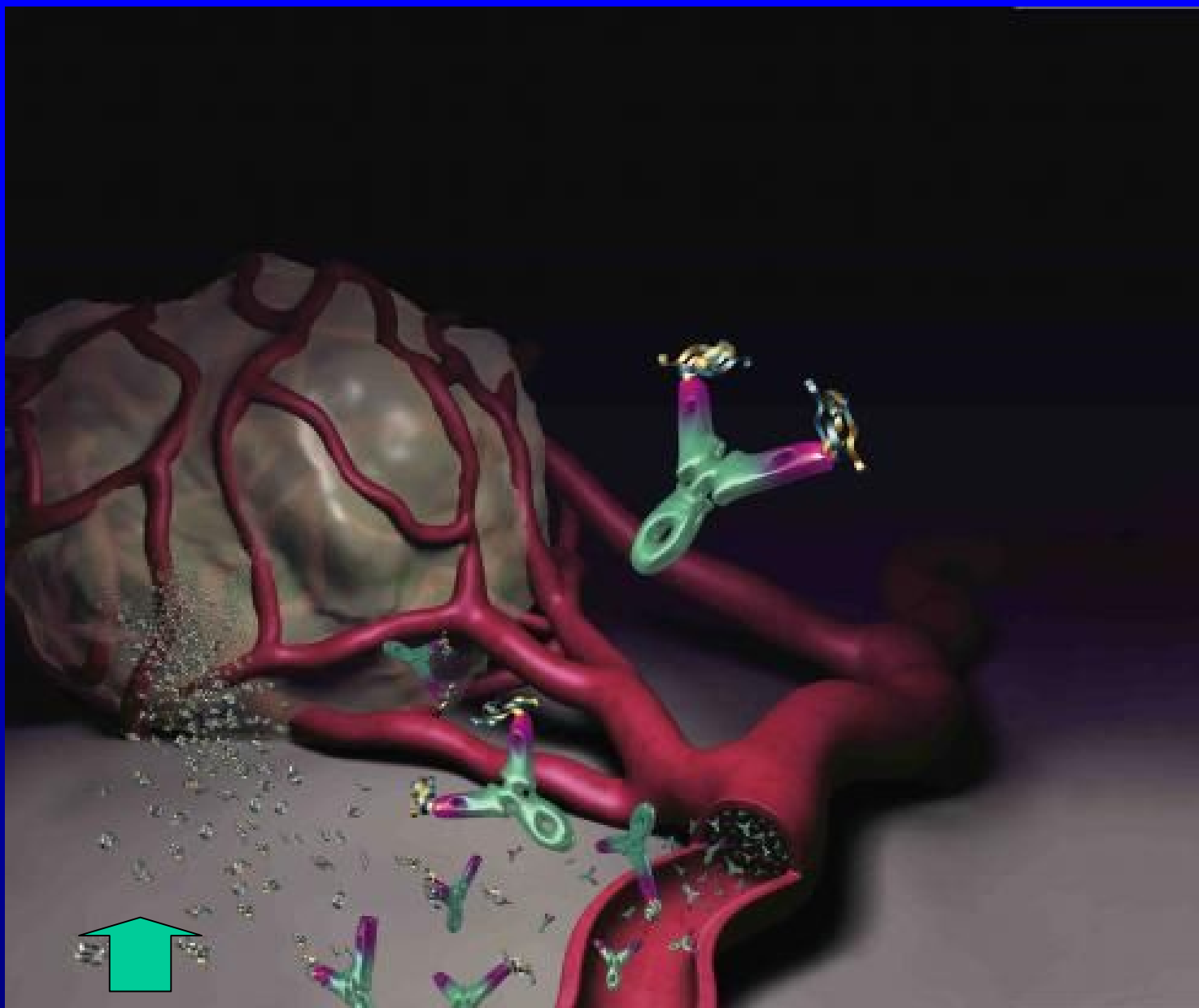
Фактор роста эндотелия сосудов - VEGF

Avastin™ (Genentech)

# Inhibition of VEGF Pathway



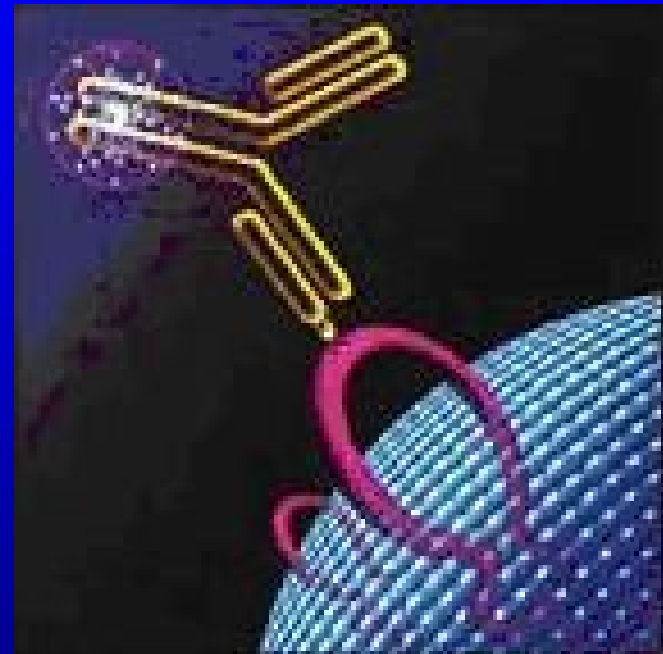
Фактор роста эндотелия сосудов - VEGF



18 Фактор роста эндотелия сосудов - VEGF

# Labelzumab

- Y spezifische Bindung an das **Carcino Embryonale-Antigen (CEA)**
- Y gezielte Aufspürung kleinster Metastasen im Körper
- Y gekoppeltes  $^{131}\text{I}$  vernichtet die entarteten Zellen



# Muromonab- Orthoclone<sup>®</sup> OKT3



Цель: CD-3 Комплекс des Antigenrezeptors von T-Lymphozyten. Нем

# Basiliximab-Simulect®



Цель - IL-2-Rezeptor

18.12.2010

# Гибридомы

- Гибридомы **революционизировали** медицину и создали в ней совершенно **новые области**. Благодаря гибридомам возникли новые методы диагностики многих заболеваний и открылись новые пути для изучения злокачественных опухолей.
- И хотя гибридомы относятся к гениальным изобретениям, а не к открытиям, они были отмечены в 1984 году Нобелевской премией, высшей научной наградой, присуждаемой за выдающиеся открытия.

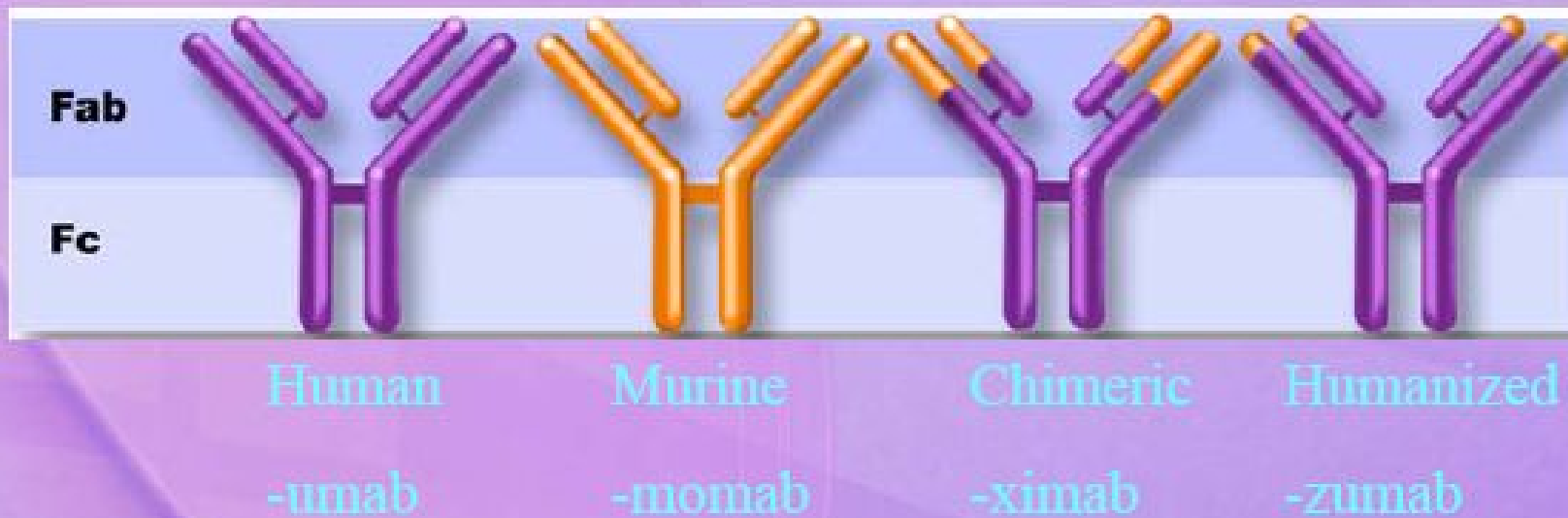
Если бы Кёлер и Мильштейн запатентовали свой метод, они вскоре бы стали миллиардерами, так как все, кто использовал бы гибридомы, должны были бы платить за право пользоваться патентом.

Авторы гибридом, несомненно, понимали это, но **в интересах развития науки не пошли на такой шаг.** Метод гибридом беспрепятственно вошел во все сферы иммунологии, и сами авторы всемерно способствовали этому, предоставляя свою клеточную линию плазмоцитомы для исследований всем желающим.

Первые гибридомы в нашей стране, полученные в 1979-1980 годах, были созданы на основе клеток, ведущих происхождение из лаборатории этих авторов и с их любезного разрешения.



# Types of Monoclonal Antibodies



# 17 терапевтических МкАТ

Table 1 | **Therapeutic mAbs approved in the United States and European Union**

Sponsor company	Generic name	US trade name	mAb type	Therapeutic category	US approval date	EU* approval date
Johnson & Johnson	Muromonab-CD3	Orthoclone OKT3	Murine	Immunological <sup>‡</sup>	19.06.1986	NA
Centocor	Abciximab	ReoPro	Chimeric	Hemostasis	22.12.1994	NA
Biogen IDEC	Rituximab	Rituxan	Chimeric	Antineoplastic	26.11.1997	02.06.1998
Protein Design Labs	Daclizumab	Zenapax	Humanized	Immunological	10.12.1997	26.02.1999
Novartis	Basiliximab	Simulect	Chimeric	Immunological	12.05.1998	09.10.1998
MedImmune	Palivizumab	Synagis	Humanized	Anti-infective	19.06.1998	13.08.1999
Centocor	Infliximab	Remicade	Chimeric	Immunological	24.08.1998	13.08.1999
Genentech	Trastuzumab	Herceptin	Humanized	Antineoplastic	25.09.1998	28.08.2000
Wyeth	Gemtuzumab ozogamicin	Mylotarg	Humanized	Antineoplastic	17.05.2000	NA
Millennium/ILEX	Alemtuzumab	Campath	Humanized	Antineoplastic	07.05.2001	06.07.2001
Biogen IDEC	Ibritumomab tiuxetan	Zevalin	Murine	Antineoplastic	19.02.2002	16.01.2004
Abbott	Adalimumab	Humira	Human	Immunological	31.12.2002	08.09.2003
Genentech	Omalizumab	Xolair	Humanized	Immunological	20.06.2003	NA
Corixa	Tositumomab-I131	BEXXAR	Murine	Antineoplastic	27.06.2003	NA
Genentech	Efalizumab	Raptiva	Humanized	Immunological	27.10.2003	NA
Imclone Systems	Cetuximab	Erbix	Chimeric	Antineoplastic	12.02.2004	NA
Genentech	Bevacizumab	Avastin	Humanized	Antineoplastic	26.02.2004	NA

\*Approved using EU centralized procedure. <sup>‡</sup>Includes arthritis, immune and inflammatory disorders and prevention/reversal of transplant rejection; NA, not approved.  
Source: Tufts Center for the Study of Drug Development.

18.12.2010

Май 2004

Таблица 3. Основное показание, предполагаемое время выхода на фармацевтический рынок, вероятность успеха и прогнозируемый объем продаж 25 наиболее перспективных препаратов, находящихся в стадии разработки

Название препарата	Основное показание	Предполагаемое время выхода на рынок, год	Вероятность успеха, %	Прогнозируемый пик продаж по всему миру, млн долл. США
Римонабант (Акомплиа)	Ожирение	2006	60	1700
Синтетический экзендин-4 (Экзенатид)	Сахарный диабет 2 типа	I квартал 2005	80	1500
Индиплон	Нарушения сна	Середина 2005	90	2486
Лазофоксифен	Остеопороз в постменопаузе	2006–2007	40	1050
Аторвастатин/торцетрапиб	Высокий уровень холестерина	2006	50	1500
Ваталаниб (РТК 787)	Колоректальный рак (солидные опухоли)	2007	25	1850
Рубоксистаурин	Диабетическая периферическая нейропатия, ретинопатия	2005	нет данных	1000
Натализумаб (Тизарби)	Рассеянный склероз	2005	85	2500
Цертолизумаб пегол (CDP-870)	Ревматоидный артрит	2006	70	825
Алвимопан (Энтерег)	Дисфункция кишечника, индуцированная опиоидами	2005	50	850
Ранибизумаб (Луцентис AMD)	Возрастная дегенерация макулы (влажная)	2007	40	600
Пегалтаниб (Макуген)	Возрастная дегенерация макулы (влажная)	I квартал 2005	95	500
Золендроновая кислота (Зомета)	Остеопороз	2008	50	1000
Абатацепт (CTLA41g)	Ревматоидный артрит	2005	60	700
Мураглитазар	Диабет 2 типа	нет данных	нет данных	нет данных
Неларабин	Острая лимфобластная лейкемия	нет данных	нет данных	нет данных
Ритуксимаб (Ритуксан)	Ревматоидный артрит	2006	50	300
SB 480848	Атеросклероз	нет данных	20	500
Сутент (SU 11248)	Гастроинтестинальные стромальные опухоли/рак почки	нет данных	50	750
Нолатрексед (Тимитак)	Рак печени	нет данных	нет данных	нет данных
UK 427857	ВИЧ/СПИД	нет данных	15	750
Бортезомиб (Велкаде)	Рак	нет данных	100	300
HPM ( <i>human papillomavirus</i> ) вакцина	Рак шейки матки, генитальные кандиломы	нет данных	нет данных	нет данных
Ротавирусная вакцина (РотаТек)	Диарея у детей младшего возраста, мальабсорбция	2005	50	250
Вакцина против вируса <i>Varicella zoster</i> (Варивакс)	Опоясывающий лишай	2005	50	500



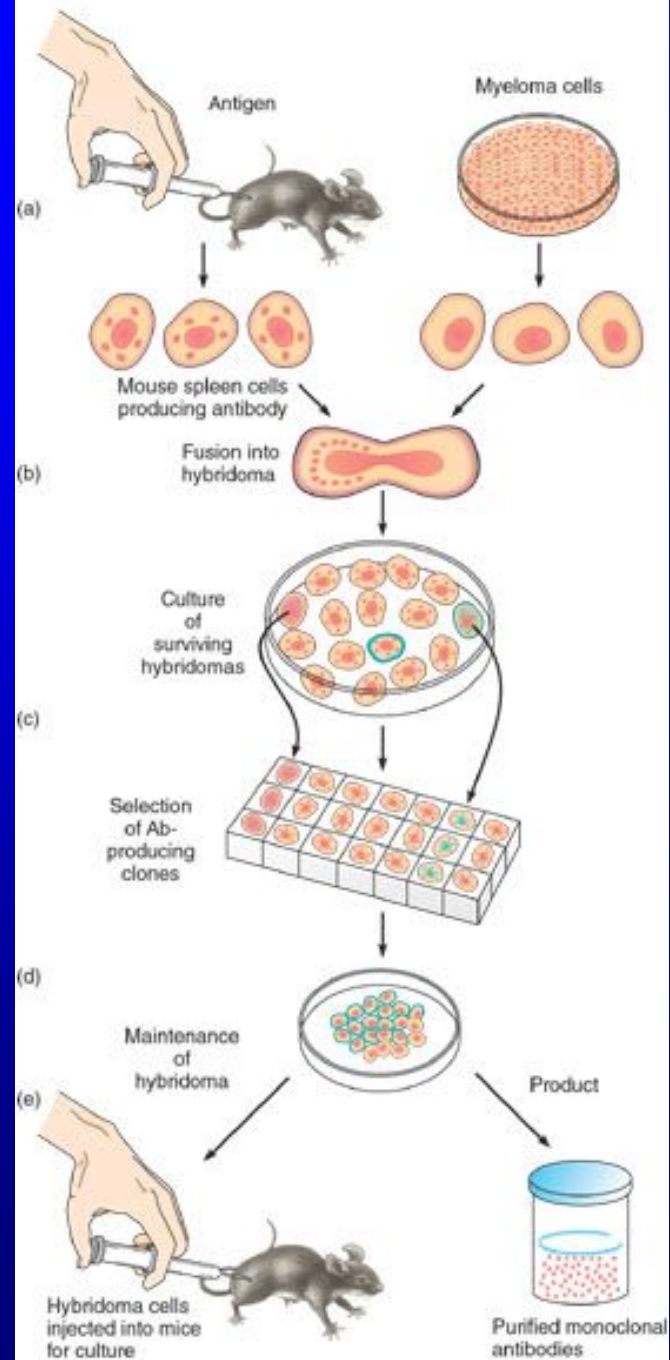
# Natalizumab therapy for moderate to severe Crohn disease in adolescents.

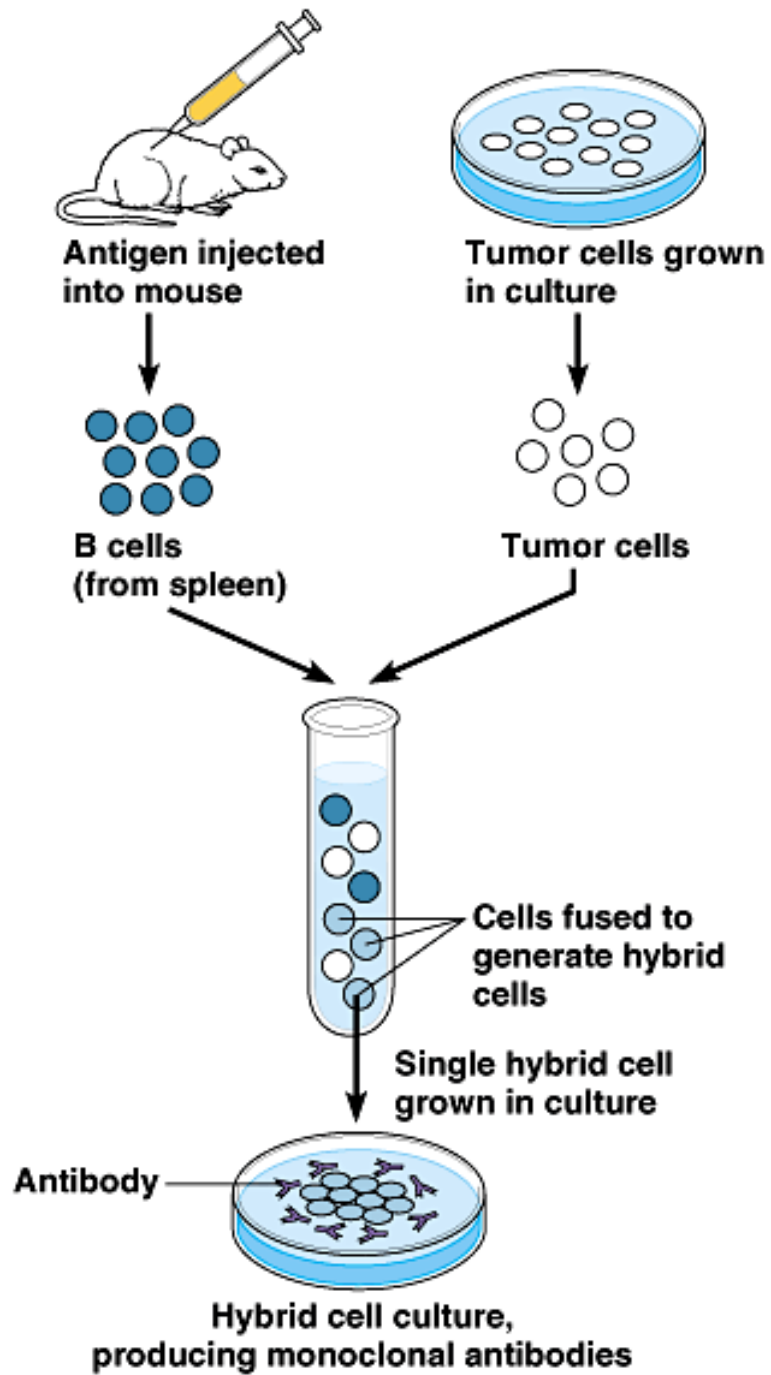


Hyams JS, Wilson DC, Thomas A, Heuschkel R, Mitton S, Mitchell B, Daniels R, Libonati MA, Zanker S, Kugathasan S;

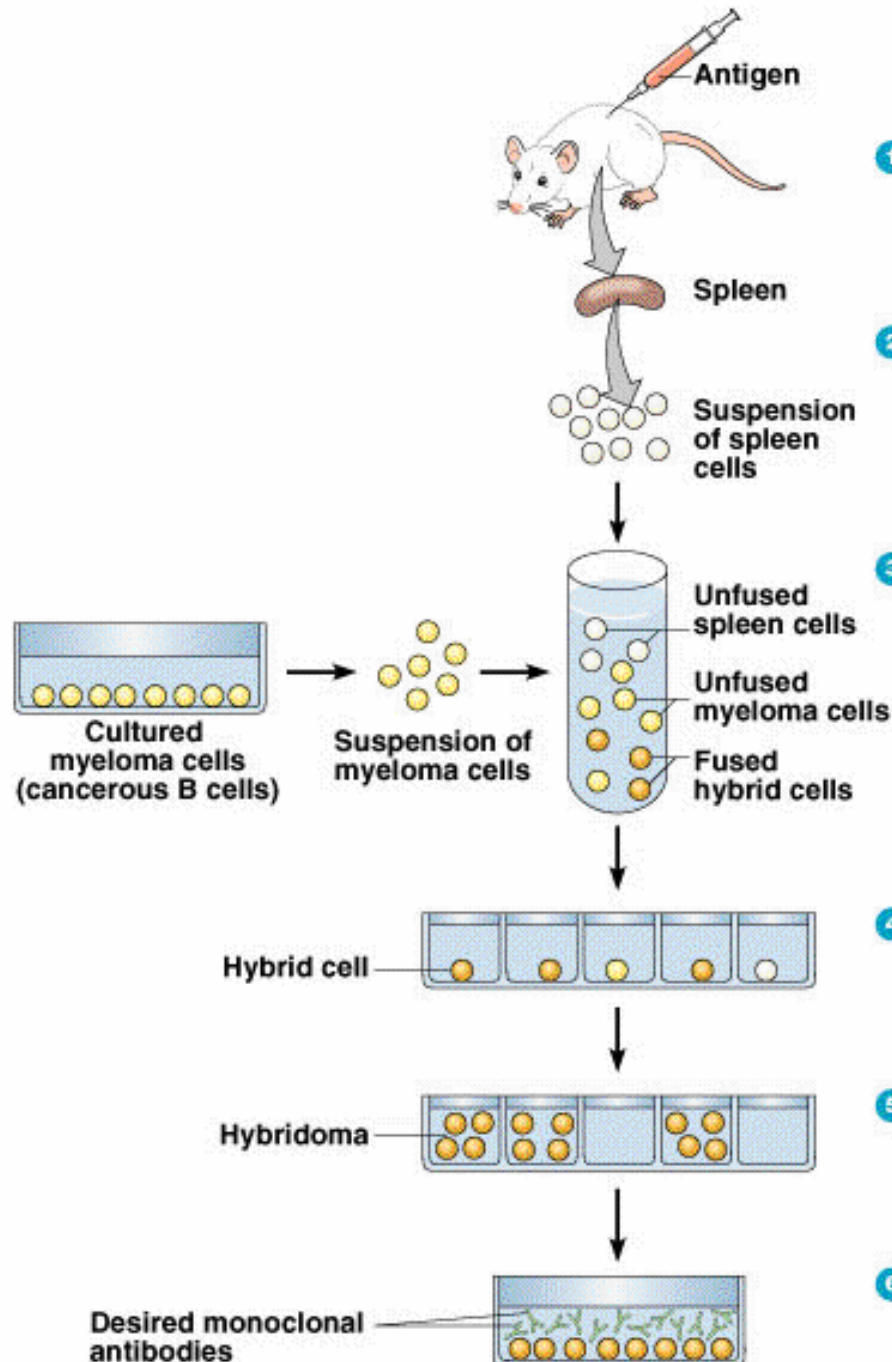
International Natalizumab CD305 Trial Group. Division of Digestive Diseases and Nutrition, Connecticut Children's Medical Center, Hartford, CT 06106, USA.  
[jhyams@ccmckids.org](mailto:jhyams@ccmckids.org)

**J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007  
Feb;44(2):185-91.**

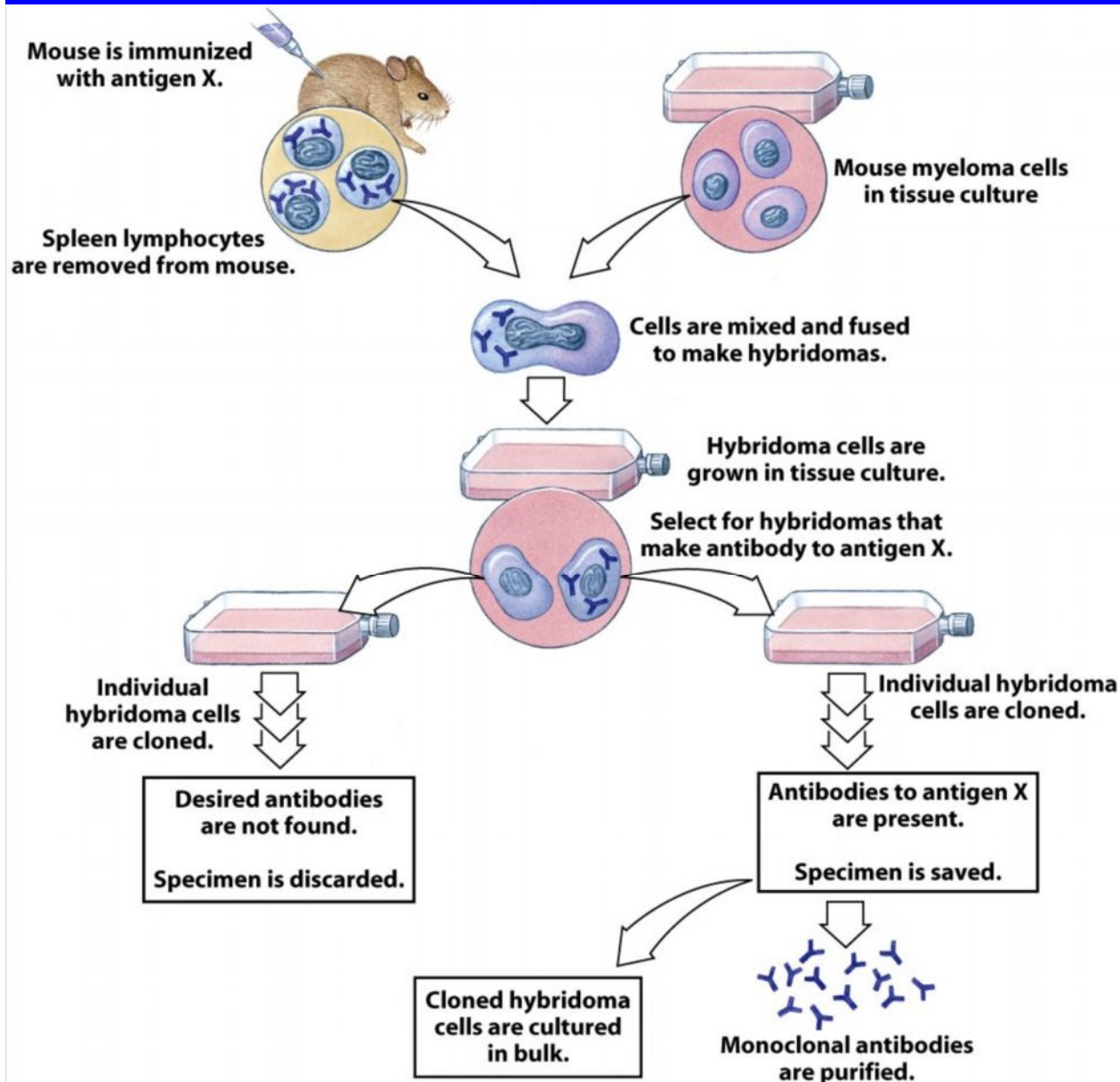




# Mab



- 1 A mouse is injected with a specific antigen that will produce antibodies against that antigen.
- 2 The spleen of the mouse is removed, and a suspension is made. The suspension includes B cells that produce antibodies against the injected antigen.
- 3 The spleen cells are then mixed with *myeloma cells* that are capable of continuous growth in culture but have lost the ability to produce antibodies. Some of the antibody-producing spleen cells and myeloma cells fuse to form hybrid cells. These hybrid cells are now capable of growing continuously in culture while producing antibodies.
- 4 The mixture of cells is placed in a selective medium that allows only hybrid cells to grow.
- 5 Hybrid cells proliferate into clones called *hybridomas*. The hybridomas are screened for production of the desired antibody.
- 6 The selected hybridomas are then cultured to produce large amounts of *monoclonal antibodies*.

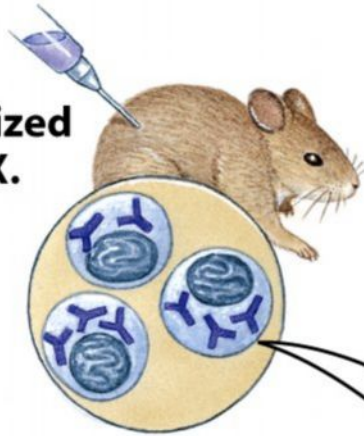


**Production of monoclonal antibodies: only the hybridoma cells grown in culture will survive, because any unfused spleen cells cannot divide, and any unfused mouse myeloma cells cannot get the nutrients they need to grow**

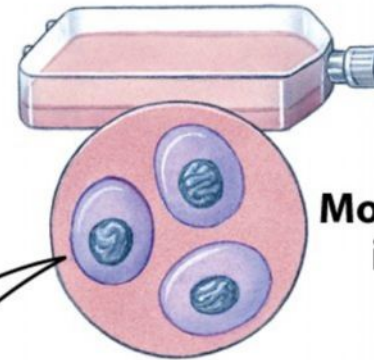
Figure 17-12 Microbiology, 6/e  
© 2005 John Wiley & Sons



**Mouse is immunized with antigen X.**



**Spleen lymphocytes are removed from mouse.**



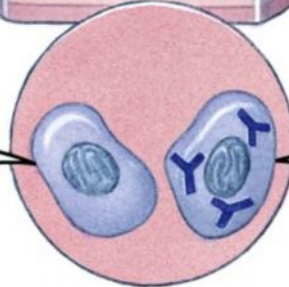
**Mouse myeloma cells in tissue culture**



**Cells are mixed and fused to make hybridomas.**



**Hybridoma cells are grown in tissue culture.**



**Select for hybridomas that make antibody to antigen X.**

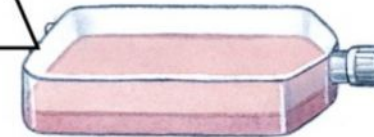
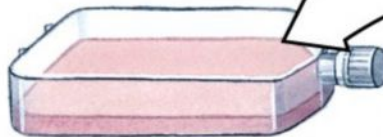


Figure 17-12 part 1 Microbiology, 6/e

© 2005 John Wiley & Sons

18.12.2010

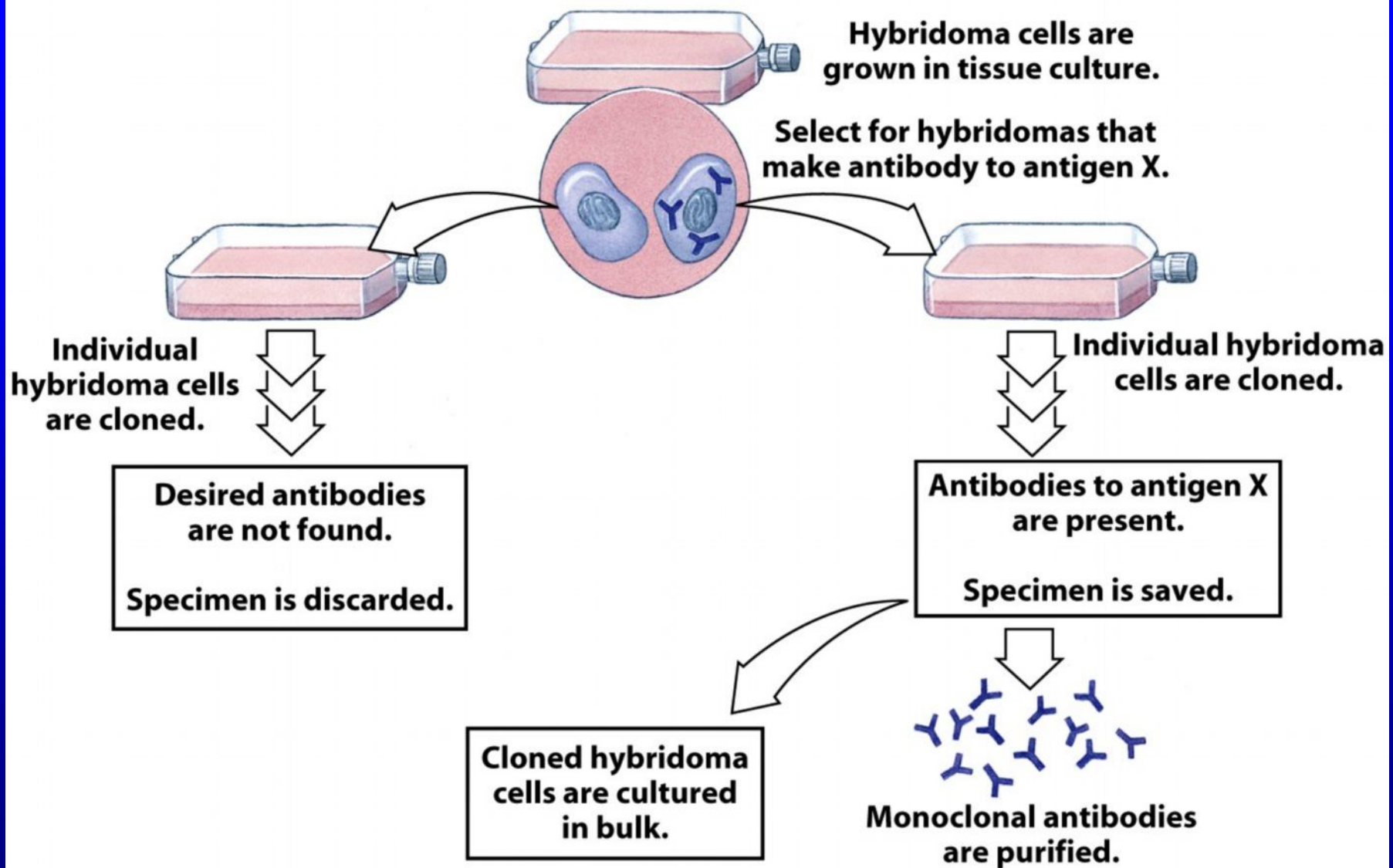


Figure 17-12 part 2 Microbiology, 6/e  
 © 2005 John Wiley & Sons

18.12.2010

# A few marketed biotech examples

