



Antikor Üretiminde Yeni Yaklaşımlar: Difteri Toksinine Karşı Plastik Antikor Geliştirilmesi

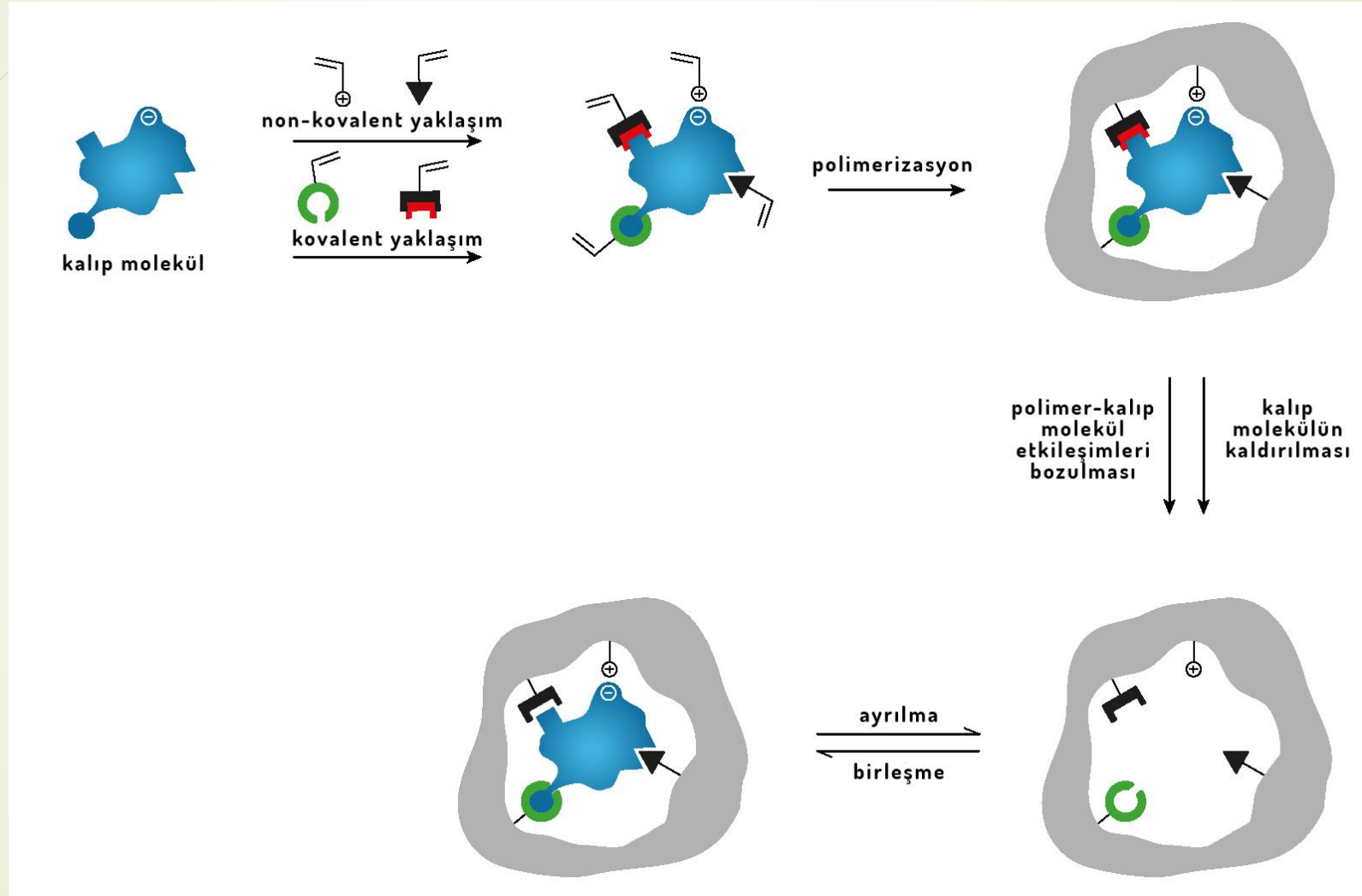
Bu çalışma 115S224 No'lu ve "Moleküler baskılama yöntemiyle difteri toksinine karşı plastik antikor geliştirilmesi" başlıklı TÜBİTAK projesiyle desteklenmiştir.

Fulya Dal Yöntem,
Merve Yaşar,
Süleyman Serdar Alkanlı,
Nilhan Kayaman Apohan,
Zerrin Aktaş,
Memet Vezir Kahraman,
Celal Güven,
Mustafa Oral Öncül,
Handan Akçakaya

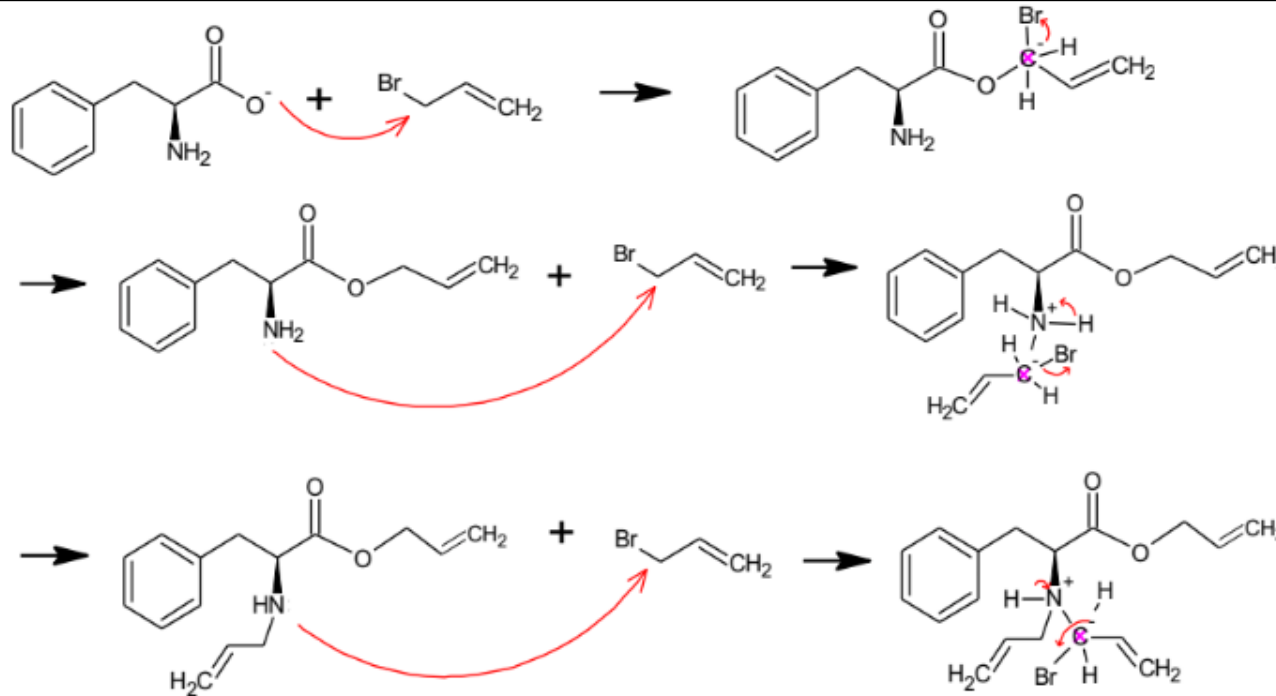
- ❖ Doğal antikorlar özgü oldukları antijen moleküllerine yüksek bir ilginlikle ve seçicilikle bağlanarak onları nötralize eder.
- ❖ Antikorlar, antijenler üzerindeki hedef bölgelere (epitop) karşı özgün üç boyutlu bağlanma yüzeyleri içerir ve antijen-antikor etkileşimleri bu bölgeler arasındaki çok sayıda zayıf karakterli kimyasal bağlarla **yapısal uyum** prensibine göre gerçekleşir.

- Ancak antikor kaynağı olarak kullanılan poliklonal nitelikli **antiserumlar** ya da biyolojik temelli olarak geliştirilen **monoklonal antikorlar**, özellikle tedaviye yönelik kullanımda istenmeyen immunolojik reaksiyonlara neden olur.
- Ayrıca elde edilmeleri uzun ve zorlu süreçler gerektirir.
- Bu projenin de çalışma konusunu oluşturan **plastik antikorlar** bu noktada biyolojik temelli yapay antikorlar için güçlü bir alternatif oluşturmaktadır.

MOLEKÜLER BASKILAMA YÖNTEMİ



Fonksiyonel monomer olarak Fenil-alanin ve diğer monomerler



Monomer	Miktar (g)
N-hidroksietilakrilamit	0.45
N-3-dimetilamino propilmetakrilamit	0.1
Hidroksietilmetakrilat	0.4
N,N,O-triallyl-L-fenilalanin	0.03
Etilen glikol dimetakrilat	0.02

Çalışmada Kullanılan Emisyonlar ve Hazırlanış Koşulları

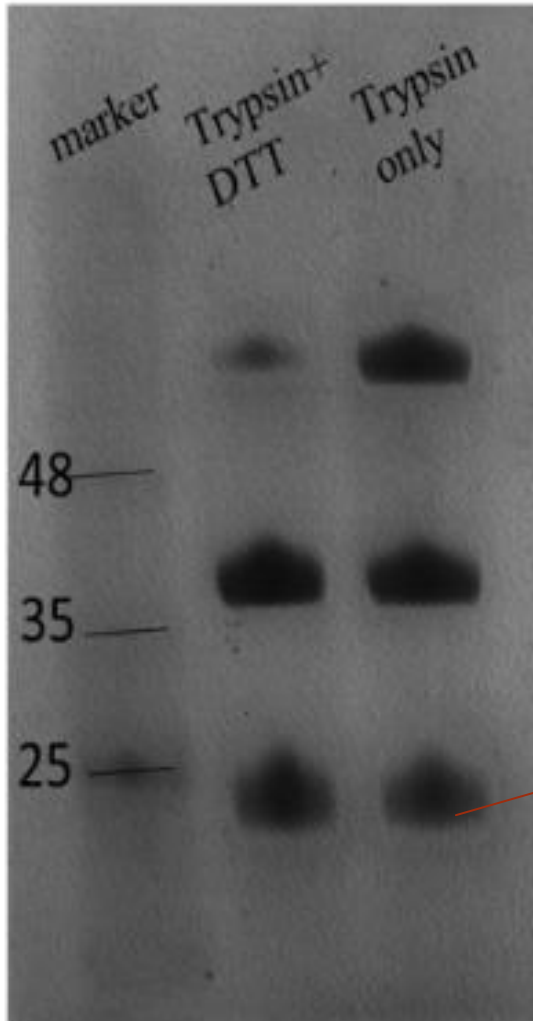
Emülsiyon	Formül No	Başlatıcı	SDS miktarı (g)		NaHCO ₃ miktarı (g)	Karıştırma Hızı (rpm)	Hekzadekan
			1.faz	2.faz			
E1	F1	Termal	0.01	0.05	0.0125	200	-
E2	F2	Termal	0.01	0.05	0.02	250	-
E3	F3	Termal	0.015	0.05	0.0125	500	-
E4	F3	Termal	0.015	0.05	0.014	300	-
E5	F3	Termal	0.015	0.05	0.0125	500	-
E6	F3	Termal	0.015	0.05	0.125	500	-
E7	F3	Termal	0.015	0.05	0.0129	250	-
E8	F3	Termal	0.015	0.05	0.0124	250	-

E21	F6	UV-1	0.03	0.1	0.015	500	-
E22	F6	UV-1	0.03	0.1	0.015	500	-
E23	F6	UV-1	0.03	0.1	0.015	500	-
E24	F6	UV-1	0.03	0.1	0.015	500	-

AP-GR-02 Güncelleme Tarihi 08/08/2015

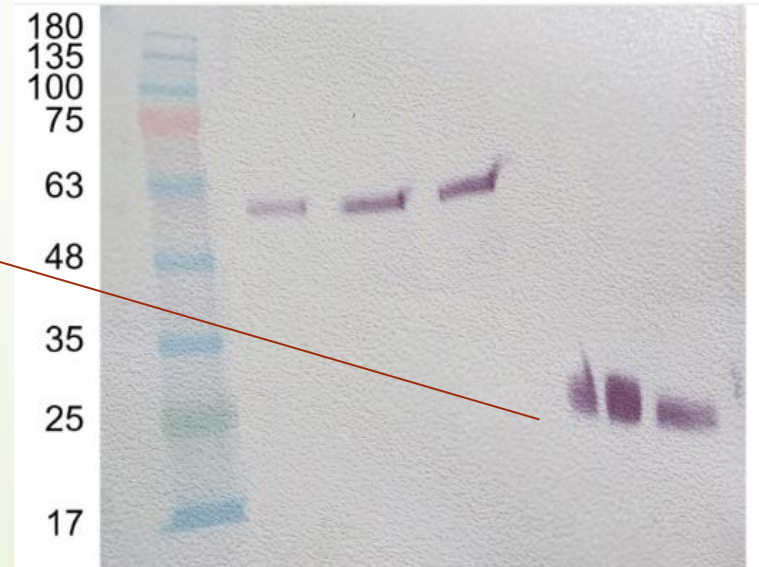
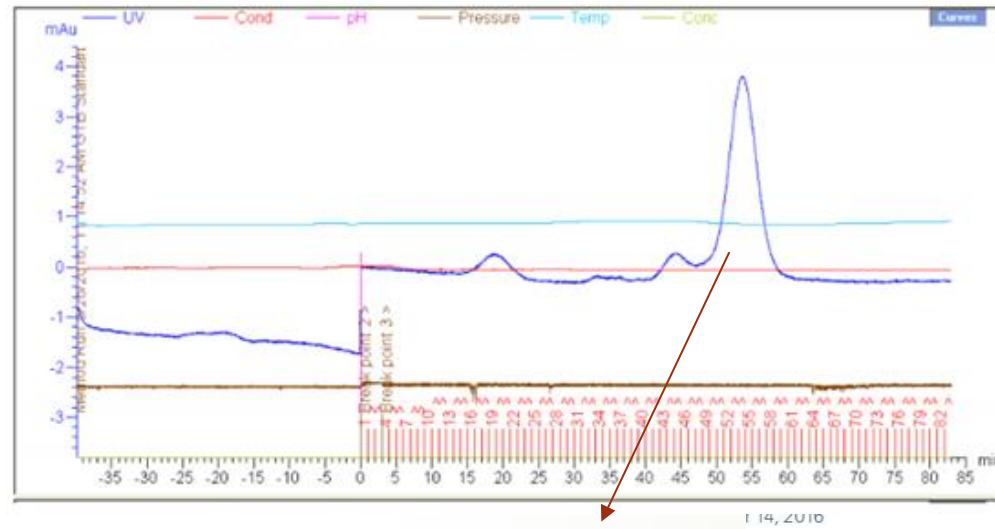
E25	F6	UV-1	0.03	0.1	0.015	500	-
E26	F7	UV-1	0.03	0.1	0.015	500	0.05
E27	F7	UV-1	0.03	0.1	0.015	500	0.03
E28	F7	UV-1	0.03	0.1	0.015	500	-
E29	F7	UV-1	0.03	0.1	0.015	500	0.03
E30	F7	UV-1	0.03	0.1	0.015	500	0.03

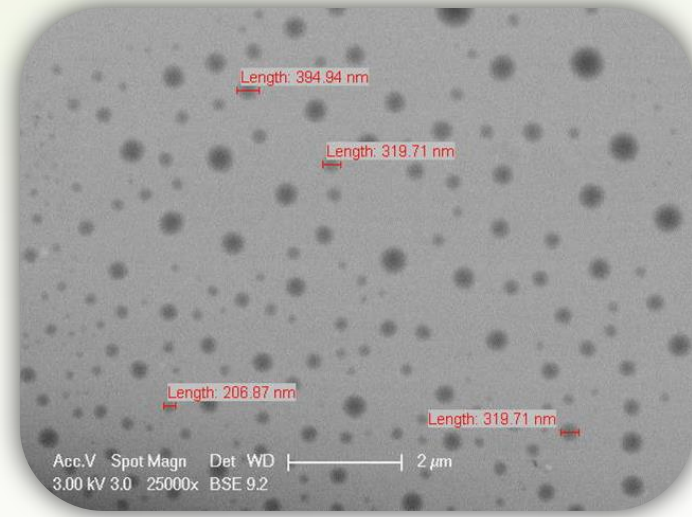
Difteri toksininin tripsin ile kesimi, elektroforez ve Western Blot sonuçları



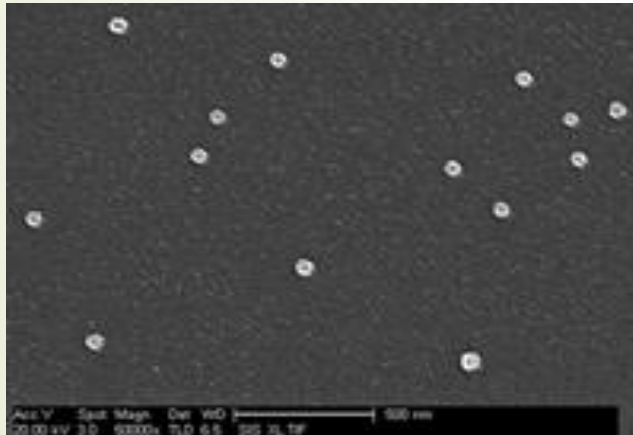
Difteri Toksini: 63 kDa
Fragment B: 39 kDa
Fragment A: 23 kDa

A
FRAGMENTİ

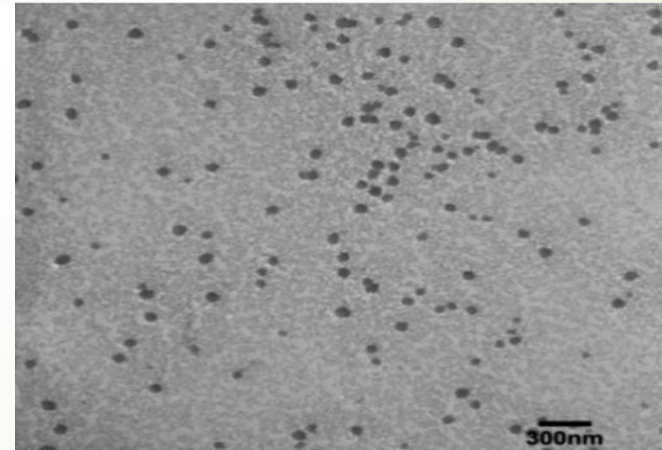




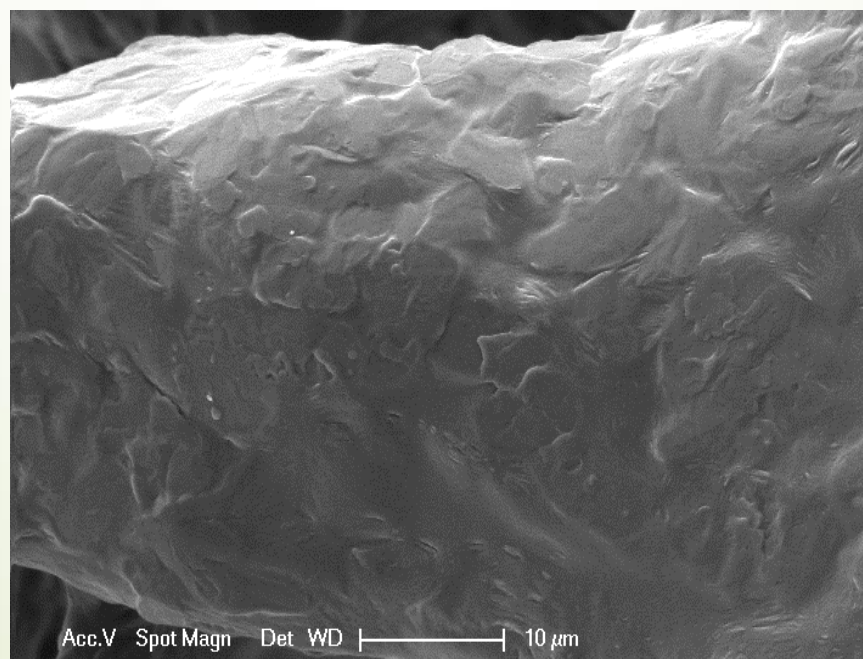
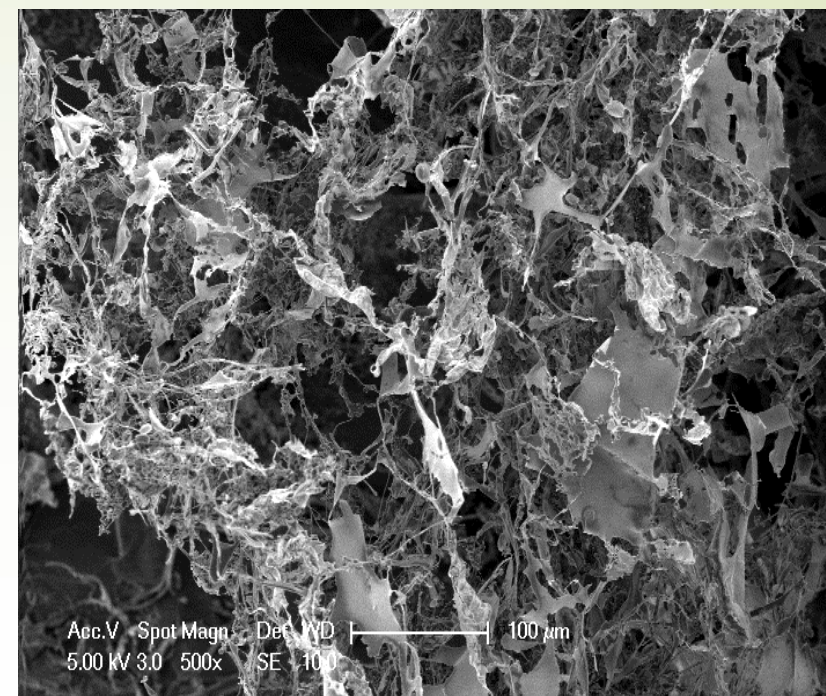
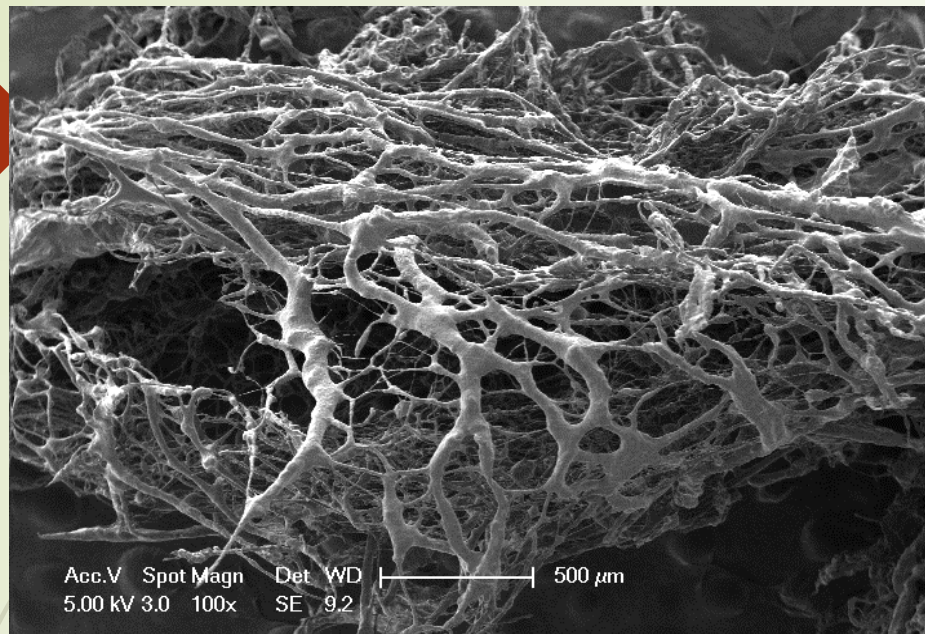
Handan Akçakaya, ve ark.
(henüz yayınlanmadı)

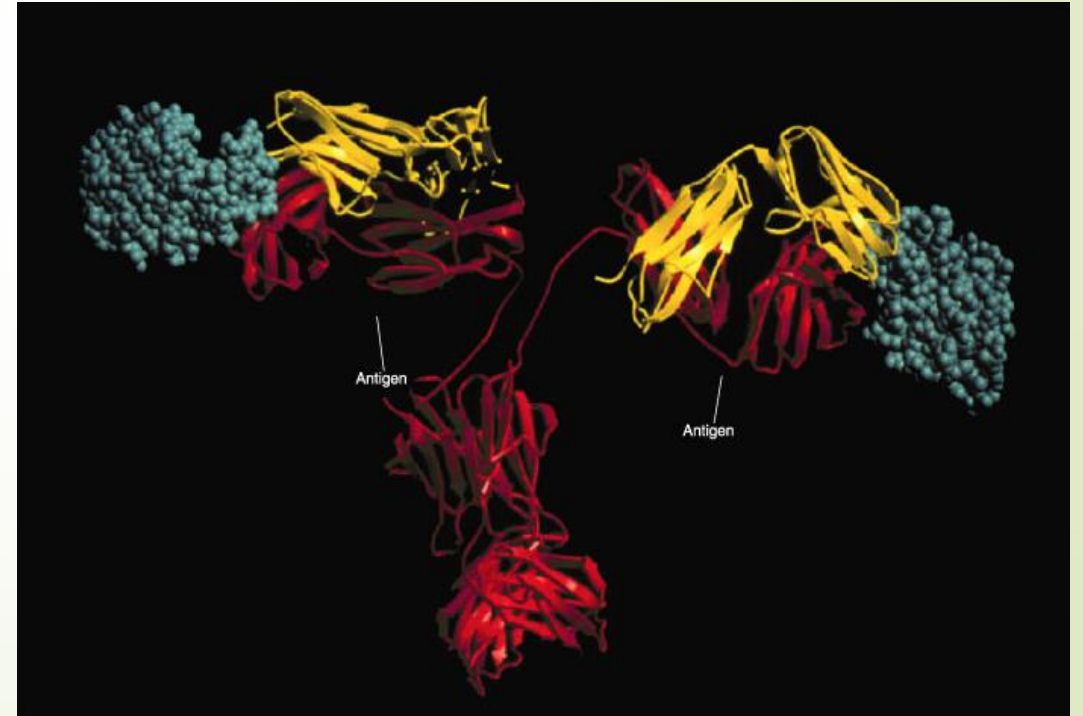


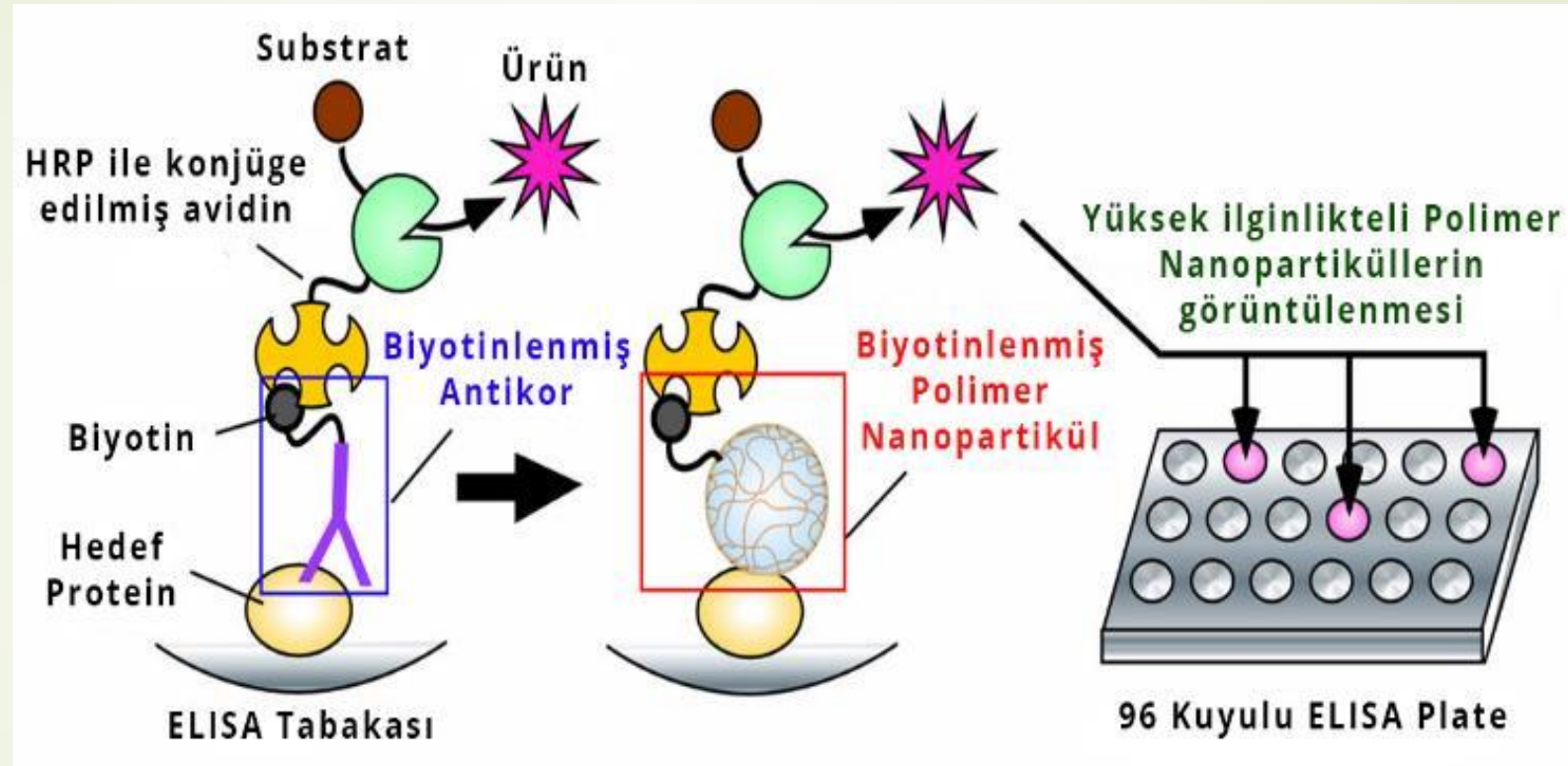
Antonio Guerreiro, ve ark.



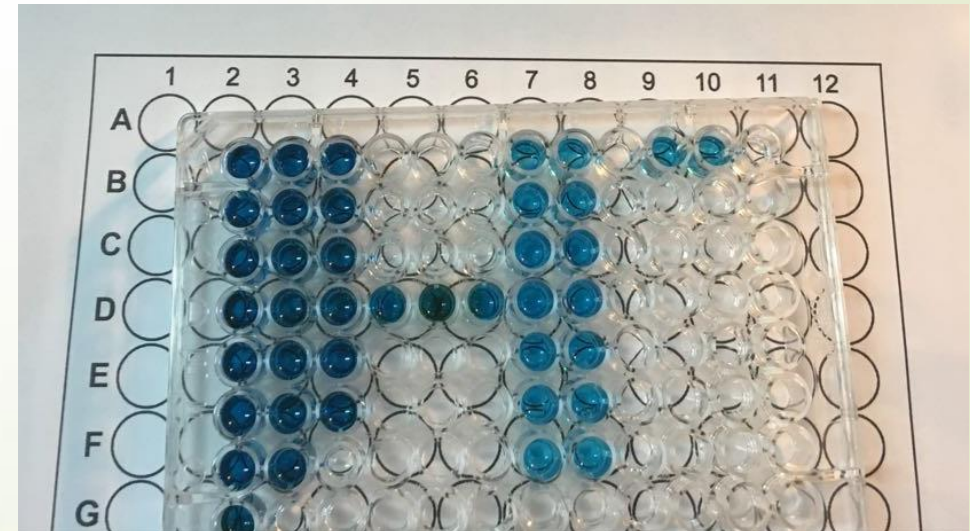
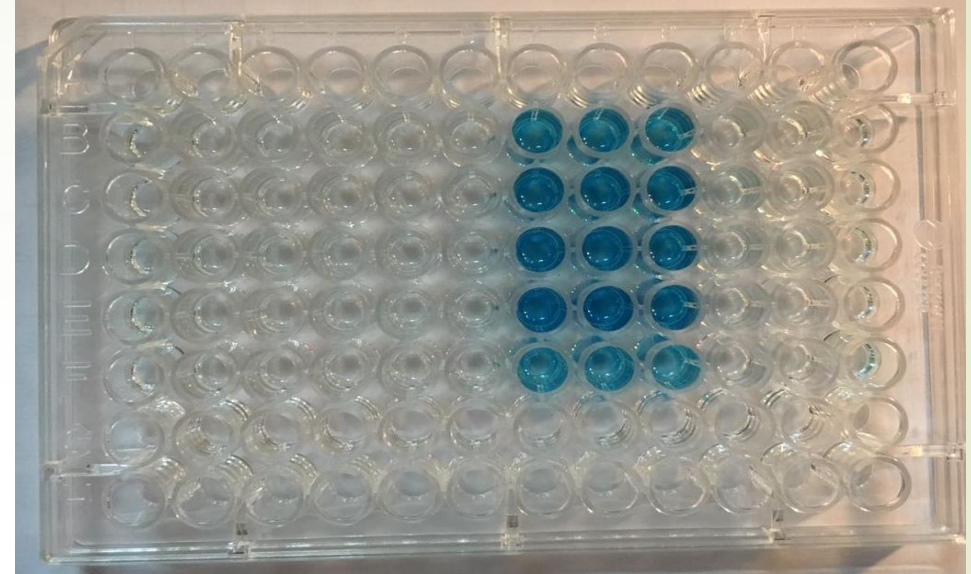
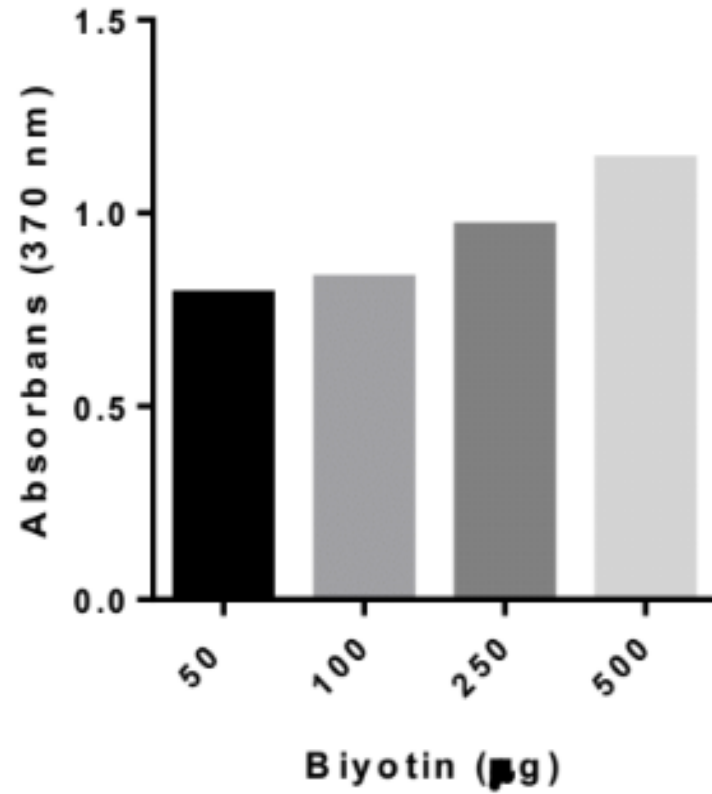
Alessandro Poma, ve ark.



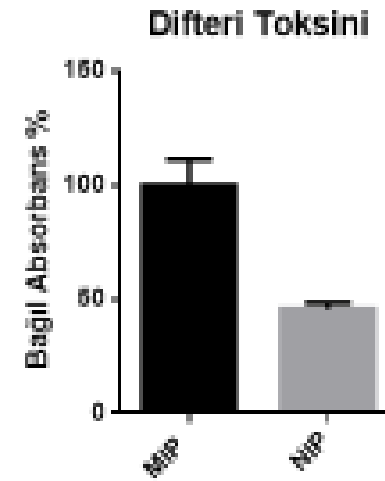
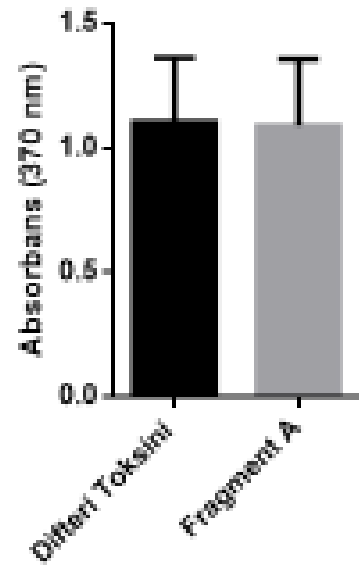


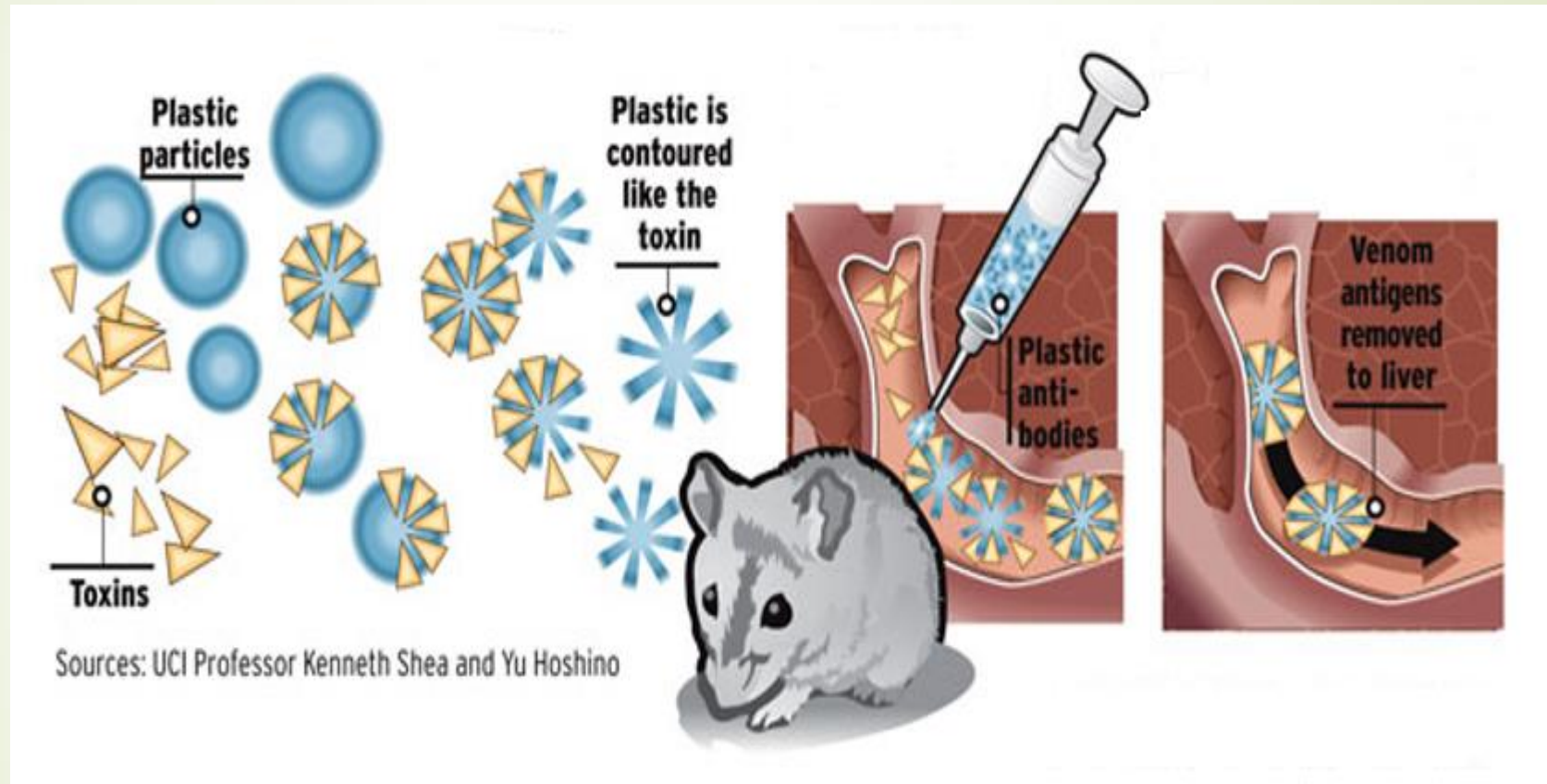


Plastik antikorun kullanıldığı ELISA testinin optimizasyonu

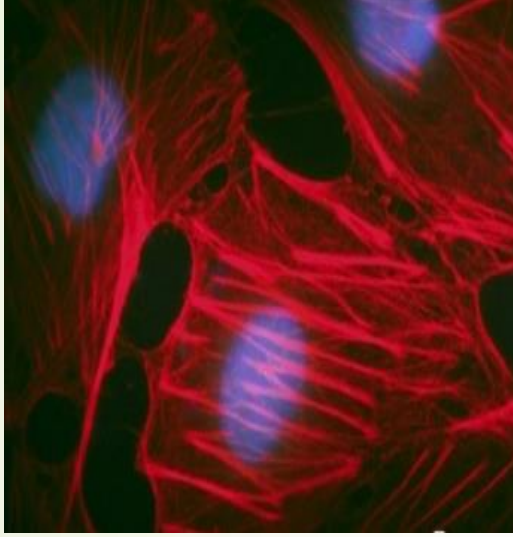


Plastik antikorun kullanıldığı ELISA testinin optimizasyonu

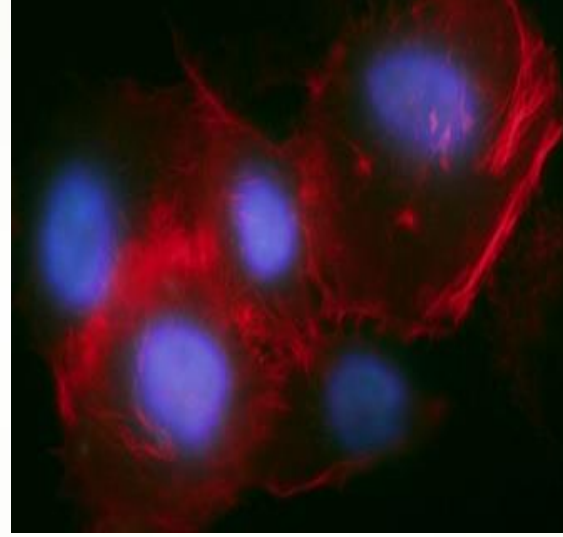




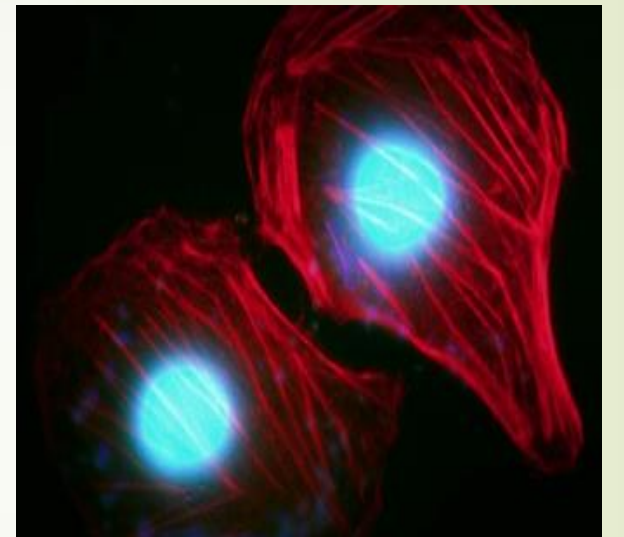
Difteri Toksininin Hücre Kültüründe (HUVEC)
in vitro nötralizasyon deneyleri



Kontrol



Difteri Toksini



Difteri Toksini+ Plastik Antikor

ANTİKORLAR VE MOLEKÜLER BASKILANMIŞ POLİMERLER



	Antikorlar	MIPlar
İlginlik	$10^{-7} - 10^{-11} M$	$10^{-3} - 10^{-10} M$
Maliyet	μg başına £100	g başına £10
Üretim	3-6 ay	2-3 gün
Tekrar Kullanılabilirlik	Genellikle hayır	Yüzlerce kez
Stabilite	Sınırlı sıcaklık ve pH değerinde	Geniş sıcaklık ve pH değerinde
Saklama Süresi	1-2 yıl	Yıllarca

- ❖Optik, akustik ve ve elektrokimyasal biyosensör olarak
- ❖İmmunolojik deneylerde bağlama komponenti olarak
- ❖Plastik farmasötik ya da ilaç taşınımı
- ❖Çevresel kirleticiler,toksinler ve ilaçların uzaklaştırılmasında

SONUÇ

- Bu çalışma MIP yöntemi uygulanarak difteri toksinine karşı plastik antikorun geliştirildiği dünyadaki ilk çalışmadır.
- Elde edilen tecrübe ve bilgi birikimi bakteri, virüs ve mantarlar için plastik antikor geliştirilmesi için prototip çalışma özelliği taşımaktadır.
- Amacımız önce mikroorganizmalara karşı tanı testleri, daha sonra da tedaviye yönelik olarak kullanılabilecek ürünler geliştirmektir.
- MIP yöntemini biyosensörler ile entegre ederek hasta başında kullanılabilir hızlı, kolay uygulanabilir ve ucuz cihazlar geliştirmek diğer hedeflerimizdir.