جامعة حماة

كلية الصيدلة

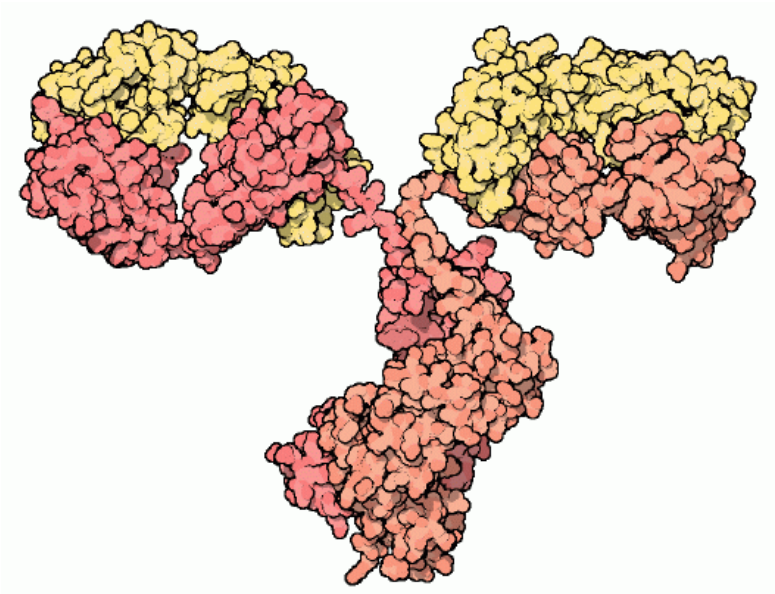
السنة الخامسة

مقرر التقانة الحيوية

المحاضرة الخامسة

اعداد : ابتسام جرجنازي

إشراف : د. ظلال قطان



إنتاج المركبات الهامة صيدلانياً (المضادات الحيوية – الأنزيمات – وبعض المركبات العضوية)

أمثلة عن بعض الأدوية البيولوجية الصيدلانية

الأنسولين البشري

الأنسولين بروتين مكون من سلسلتين ببتيديتين A, B مرتبطتان ببعضهما بروابط ثنائية الكبريت، يصنع بداية كـ pre pro insulin والذي يتكون من سلسلة ببتيدية واحدة يتم شطرها للوصول إلى pro insulin المكون من ثلاث سلاسل ببتيدية A,B,C تشطر منها في النهاية السلسة C للوصل للبروتين النهائي أي أنه لا يصطنع في جسم الانسان بالشكل النهائي مباشرة.

هذه العملية تتم في الشبكة الاندوبلازمية الداخلية وجهاز غولجي.

–أمثلة عن أدوية تجارية للأنسولين: Humulin هو أول عديد ببتيد مأشوب يحصل على موافقة FDA سنة ١٩٨٢ ، يصطنع الانسولين البشري في E. COLI وهو مماثل كيميائيا وفيزيائيا للأنسولين المفرز من المعثكلة وهو لا يحتاج بعد الترجمة سوى تعديل واحد هو الشطر باستخدام أنزيمات بروتياز محددة، وهو غير محرض لجملة المناعة .

–قبل عام ١٩٨٦ كان الانسولين يحضر بإنتاج السلسلتين A,B بشكل منفصل في الجراثيم (تدخل مورثة السلسة A في بلازميد ومورثة السلسلة B في بلازميد آخر) ومن ثم بعد الانتاج يتم ربطهما كيميائيا من خلال ربط السلسلتين بالأكسدة فالروابط المتشكلة بين السلسلتين هي رابطتين ثنائيتي الكبريت ولتشكيل الروابط نضع السلسلتين في وسط مؤكسد بحيث يتم نزع ذرات الهيدروجين من SH لترتبط ذرتي الكبريت الموجودتين في السلسلة الأولى مع الذرتين في السلسلة الثانية وتتشكل روابط ثنائية الكبريت.

–حاليا يتم تصنيع طليعة الانسولين ثم يتم شطر الببتيد C أنزيميا.

–في عام ١٩٩٦ تم تصنيع الانسولين في خلايا الخميرة (خميرة الخبز) وسمي Novolin والانسولين الناتج يكون مقطوع وجاهز ولكن من مساوئه أن سرعة تكاثر الخمائر أقل بكثير من سرعة تكاثر البكتريا.

–إن شكلي الانسولين المنتجين لديهما بعض المشاكل فالانسولين يحوي حموض أمينية كارهة للماء ارتباطها مع بعضها يؤدي إلى تكدس جزيئات الانسولين مع بعضها البعض ، تتفكك هذه الجزيئات المتكدسة ضمن بلازما المريض لكن هذا التفكك وتحرر الدواء يكون بطيء.

–كان الحل باصطناع مماثلات الانسولين التي تملك ميلاً منخفضاً للتكدس وذلك من خلال إجراء تعديلات تتم باستخدام تقنية "تطفير سميث الموجه للموقع"، حيث يمكن تغيير المعلومات الموجودة بالمادة الجينية باستخدام التطفير الموجه للموقع من خلال شدف DNA مصطنعة كوسيلة لتغيير شيفرة ثلاثية معينة في جزيء DNA عندها يمكن لجزيء DNA المعاد برمجته أن يتحكم بتغيير البروتين وذلك باستبدال حمض أميني واحد .

–باستخدام تطفير سميث الموجه للموقع يمكننا:

١– تطوير مماثلات للبروتينات الطبيعية بغية تحسين صفاتها الحركية والدوائية.

٢– دراسة تأثير غياب أو حضور حموض أمينية محددة على طي البروتين.

٣– تحليل كيفية طي البروتين في هيكله ثلاثي الأبعاد الفعال بيولوجيا.

٤– دراسة أهمية الحموض الأمينية في المواقع الفعالة للأنزيمات .

٥– دراسة معقد التنظيم الخلوي للجينات لزيادة فهمنا حول الآلية الكامنة وراء الأمراض المعدية والجينية ومن ضمنها السرطان.

هرمون النمو البشري

قبل توفر البروتين المأشوب كان هرمون النمو يستخلص من خزعات الغدة النخامية مع توفر كميات قليلة جداً لا تناسب احتياجات السوق الدوائية إضافة إلى أن تلك المستحضرات كثيراً ما احتوت على تلوث فيروسي، أول مستحضر لهرمون النمو المأشوب كان سوماتوتروبين somatotropin واحتوى على ثمالة مثيونيل إضافة إلى النهاية الأمينية بعد إنتاجه في E.coli وأبدى قدرة استمناعية أكبر من الهرمون الطبيعي .وبعد ذلك تم استبداله بالهرمون الطبيعي المأشوب نوتروبين nutropin. يستخدم لمعالجة العوز في هرمون النمو لدى الأطفال ، القزامة، اضطرابات النمو ونمو العظام والبلوغ.

الانترفيرونات

من عائلة البروتينات تساهم في علاج الأمراض الفيروسية والسرطانات ، تنتج في E.coli وقد تمت مصادقتها لعلاج أنواع من ابيضاض الدم و الساركوما والتصلب المتعدد، تنتمي إلى ثلاث أصناف هي ألفا ، بيتا، غاما، جميع الخلايا تنتج الانترفيرونات ألفا وبيتا استجابة للانتان الفيروسي بينما ينتج الانترفيرون غاما من قبل الخلايا التائية والقاتلة الطبيعية.

دورناز ألفا Dornase alpha

هو بروتين مأشوب للأنزيمات الحالة لل Deoxyribonuclease DNA يقدم كحلالة هوائية aerosol وتمت المصادقة عليه ١٩٩٣ لعلاج التليف الكيسي. يتم إنتاجه في خلايا مبيض الفأر الصيني chinese hamster ovary celle (CHO) ويتضمن ٢٦٠ حمضاً أمينياً ، يحتاج إلى تعديلات مابعد الترجمة لذلك استخدمنا خلايا مبيض الفأر في إنتاجه وليس البكتريا.

مرض التليف الكيسي ناتج عن تعطيل وظيفة قنوات الكلور هذا يؤدي إلى تخرب الخلايا وحدوث تقيحات وهذا يؤدي لخروج ال DNA من الخلايا حيث يلعب دور اللاصق بسبب غناه بالروابط الهدروجينية حيث يعمل على ربط الخلايا ببعضها ويتشكل لدينا مخاط لزج وخطير حيث يتجمع ف الرئتين ويعيق التنفس، يقوم هذا الأنزيم المأشوب بتقطيع الدنا خارج الخلوي الذي يتراكم بتراكيز عالية في المفرزات الهوائية لدى مرضى التليف الكيسي ، إن التقليل من المخاط الكثيف يقلل من الانتانات.

مفعل البلاسمينوجين النسيجي TPA

بروتين سكري مأشوب مطابق للبروتين الطبيعي يملك ٥٢٧ حمضاً أمينياً يحرض على تدرك الخثرة وينتج في خلايا CHO ، يستخدم في حالة: احتشاء القلب الحاد والصمة الرئوية.

التخليق الحيوي لبعض المواد الهامة

التخليق الحيوي بالإنجليزية Biosynthesis :هو طريقة تكّون بها الخلايا الحية مركبات كيميائية معقدة من مواد أبسط. فمثلا ترتبط جزيئات بسيطة، تسمى الحموض الأمينية معا لتكوين البروتينات، كما يكون ثاني أكسيد الكربون في النباتات السكريات والنشا. تحتاج كل خلية، مثل المصانع تماماً، مواد خاماً وعمالاً، ومصادر الطاقة قبل أن تتمكن من صنع منتجاتها. والمركبات الكيميائية البسيطة نسبياً، هي المواد الخام للتخليق الحيوي، والتي يحصل عليها الإنسان والحيوان من هضم الغذاء، وتحصل عليها النباتات من التركيب الضوئي والتنفس. أما الأحياء المجهرية مثل، البكتيريا والخميرة، فتحصل عليها من محيطها. وعمال الخلية إنزيمات ، وهي جزيئات البروتين التي تسرع التفاعلات الكيموحيوية .وتحتوي الخلية على مئات أو ألوف الأنواع المختلفة من الإنزيمات، يكون كل نوع منها مسؤولاً عن تسريع تفاعل محدد، أو مجموعة من التفاعلات المتشابهة. وأحد مصادر الطاقة الرئيسية للخلية هو ثالث فوسفات الأدينوزين، وهو مركب غني بالطاقة. تطلق إنزيمات خاصة الطاقة الموجودة في ثالث فوسفات الأدينوزين متى احتاجت إلى القدرة لإحداث تفاعل. ويعيد الإنسان والحيوانات ومعظم أنواع البكتيريا، بشكل مستمر، تخزين ما يسد الحاجة من ثالث فوسفات الأدينوزين بوساطة أخذ الطاقة المحررة من الغذاء المهضوم. تجدد النباتات ما يسد حاجتها من ثالث فوسفات الأدينوزين بشكل رئيسي بوساطة تجميع الطاقة من الشمس.

المنتجات الحيوية للبكتريا الصناعة

Industrial Bacteria Products of :

يقصد بكلمة البكتريا الصناعية (البكتريا المستخدمة فى الصناعة) هو استغلال البكتريا فى إنتاج أية منتجات بواسطتها مشتملاً ذلك على النواتج الأولية أو الثانوية للأيض Primary or secondary metabolites. وتدخل نواتج الأيض الأولية مباشرة فى عمليات النمو والتمايز والتكاثر وبالتالي فإن النواتج الأولية أساسية لنمو الخلايا مثل الأحماض الأمينية والنيوكليوتيدات والبروتينات والأحماض النووية والليبيدات والكحولات والكربوهيدرات والأحماض العضوية. بينما تشتمل نواتج الأيض الثانوية على المركبات التي لا تدخل مباشرة في نمو وتمايز وتكاثر الخلايا . كما تنتج الميكروبات جزيئات كبيرة الحجم وهي الإنزيمات التي تُستغل تجارياً على نطاق واسع كما أن الخلايا الميكروبية نفسها تستخدم كمصدر للبروتين فى تغذية الحيوانات ، وفي عمليات التحول الكيميائية البيولوجية وهي العمليات التي تقوم فيها هذه الخلايا بتحويل مركب إلى مركب آخر أو مركبات أخرى ذات علاقة تركيبية بالمركب الأول وذلك باستخدام إنزيم أو أخر توفره هذه الخلايا.

والتفاعلات الكيميائية التي تستخدم فيها الكائنات الدقيقة (التفاعلات البيولوجية) أفضل كثيراً من التفاعلات الكيميائية غير البيولوجية، حيث أن الأخيرة تستهلك كميات محسوسة من الطاقة وذلك لرفع أو خفض درجة حرارة الأواني التي يجري فيها التفاعل بالإضافة الى أن هذه التفاعلات تحدث في وجود مذيبات وتتطلب وجود عوامل مساعدة وكلاهما قد يكون من الملوثات.

كما تنقسم البكتريا المستخدمة في الصناعات من حيث علاقتها بالأكسجين الى بكتريا لاهوائية Anaerobic bacteria وبكتريا هوائية Aerobic bacteria والمجموعة الأولى تشكل أعداد كبيرة جدا من البكتريا النافعة من الوجهة الصناعية ومنها الأنواع المنتجة للبيتانول والأسيتون والإيثانول وحمض اللاكتيك والتي تدخل في صناعات الألبان . أما الأنواع الهوائية مثل بكتريا Acetobacter التي لها القدرة على إنتاج حمض الخليك والجلوكونيك. وتشتمل المجالات الصناعية التي تدخل البكتريا فيها على مجالات عديدة لعل من أهمها:

أ- الصناعات الصيدلانية (الدوائية)
Pharmacological industries

قدمت الثورة الحادثة في مجال البيولوجيا الجزيئية إمكانية إنتاج مدى جديد من المواد الدوائية الفعالة باستخدام الهندسة الوراثية بالتوازي مع الطرق البكتريولوجية فقد أصبح الآن من الممكن نقل الجينات من

أحد الكائنات إلى بلازميد أو جينوم كائن آخر بحيث يوجه هذا الجين الجديد المحقون تخليق بروتينات جديدة في هذا الكائن الذى تم نقل الجين إليه.

ومن ثم، فإن أحد المواد ذات النشاط الدوائي والتي تستخدم في العقاقير والتي يتم إنتاجها بواسطة جين معين، يمكن مضاعفة هذا الإنتاج إلى كميات كبيرة على نطاق تجاري اذا تم نقل هذا الجين الى كائنات أخرى لتوجيهها لإنتاج أحد هذه المواد، مثلت عملية إنتاج الدواء باستخدام الكائنات الحية الدقيقة ، البكتريا ، والتي سميت التقنية الحيوية (Biotechnology) نقلة نوعية هامة جدا في عملية انتاج الدواء . وقد فتحت أبواباً هائلة لتطور عملية إنتاج الدواء ، مفتتحة الأمر بالأنسولين ، احد أعظم الاختراعات في القرن الماضي ، ومن ثم الانترفيرون ، الخاص بالمناعة ، والايبوتين (Epotine) ، لإنتاج خلايا الدم لدى مرضى الكلى ، والكثير الكثير من اللقاحات والأدوية المناعية . كانت هذه الخطوة الجبارة شمعة الأمل التي أعطت العلماء آفاق جديدة لإنتاج الدواء.
وقد بدأ العلماء بعد ذلك بالتفكير الجدي لاستخدام أنواع حية اخرى لإنتاج الدواء ، إلا أن جهودهم هذه كانت تصطدم دائما بمشكلة تعقيد الخلايا في الكائنات الاكثر رقياً من البكتريا. وفي إطار هذه التقنية ، هناك العديد من التجارب الواعدة لإنتاج لقاحات مضادة لالتهابات الكبد الوبائي و الكوليرا.
كما أن هناك تجارب أخرى تعمل على إضافة مضادات حيوية من أصول ميكروبية لمنظفات الأسنان لمحاربة التسوس . وكذلك استخدام البكتريا لإنتاج مضادات فيروسية ، كمضاد فيروس سارس الذي مازال العمل جارياً عليه حالياً . ويرى بعض العلماء أن مستقبل إنتاج الادوية سيكون معتمدا بشكل مباشر على الكائنات الدقيقة ، حيث سيعمل العلماء على تكوين معامل حية لإنتاج الدواء . ومن هذه المواد ما يلي:

١- الفيتامينات

من أكثر العقاقير التي يتم تعاطيها دون وصفة طبية (non-prescription medication) وعلى الرغم من التحفظات الطبية على ذلك إلا أنه أمر واقع على مستوى العالم.
ومعظم الفيتامينات يتم إنتاجها اقتصاديا بصورة مخلقة Synthetic، إلا أن بعضها يتم تخليقه بيولوجياً (Biosynthetically). وتنتج الفيتامينات من البكتريا على نطاق واسع حيث أثبتت مقدرتها على إنتاج الثيامين B1 والريبوفلافين B2وحمض الفوليك والبانتوثينيك والبيرودوكسيل والبيوتين. كما تلعب عمليات التحول الكيميائي ذات الطابع البيولوجي biotransformation دور هام جدا في إنتاج حمض الأسكوربيك vitamin C والتوكوفيرول vitamin E.

١- فيتامين B12 (كوبالامين)

أمكن لبعض سلالات البكتريا أن تنتج هذا الفيتامين ومن اهمها:
Bacillus megaterium , butyribacterium rettgeri, Streptomyces،

Olivaceus

وقد تم إنتاج فيتامين B12 على وسط غذائي يحتوى على مولاس البنجر sugar cane molasses باستخدام Pseudomonas denitrificans كما أن هناك بعض أنواع جنس Propionobacterium تستخدم لإنتاج هذا الفيتامين.

ولان هذه الفيتامين من الفيتامينات الأساسية التي يحتاجها الحيوان فإنه تبعا لذلك يوجد في كل الانسجة الحيوانية نسب ضئيلة منه – تنتجها الكائنات البكتيرية التي تعيش داخل أمعاء الحيوان – وخاصة في الكبد وبالتالي يمكن عزله من هذه الأنسجة الحيوانية للحصول عليه .

٢–الريبوفلافين B2

تيم تخليق هذا الفيتامين عن طريق عمليات التحول الكيميائي البيولوجي biotransformation للجلوكوز الى د–ريبوز بواسطة جنس العصويات .ويعتبر اللبن ومنتجاته وكذلك بعض الخضروات والخميرة مصادر أساسية لهذا الفيتامين حيث تحتوى عليه بنسب كبيرة.

٢– الأحماض الأمينية

تنتج بعض أنواع البكتريا الأحماض الامينية ذات الأهمية الغذائية والدوائية العالية عن طريق تخليقه من مركبات نيتروجينية غير عضوية، وقد يكون إنتاجه داخل الخلايا الميكروبية أكثر من حاجة الكائن له فيتم إفرازه إلى الوسط الخارجي المنمى عليه الميكروب، حيث يسهل استخلاصه للحصول عليه. وتنقسم الأحماض الامينية الى قسمين –حسب أهميتها لجسم الإنسان ومن حيث هل يستطيع الجسم تخليقها داخله أم لا– القسم الأول أحماض أساسية وهى التي لا يستطيع الجسم تخليقها ويلزم إمداده بها من الخارج، وهى تتواجد في اللحوم والبيض واللبن والمنتجات الحيوانية ، والقسم الثاني أحماض غير أساسية ولكن يمكن للجسم أن يخلقها داخله .

وقد استغلت بعض أنواع البكتريا لإنتاج مثل هذه النوعية من الأحماض الأساسية وبكميات كبيرة لم تكن في الحسبان. فمثلا أمكن إنتاج ٥٠ كيلو جرام من البروتين من ٥٠٠ كيلو جرام من الكائنات الميكروبية (نتحدث عامة وليس عن البكتريا فقط، والمقصود هنا فطر الخميرة) بينما ينتج حيوان الحقل ٠.٤ كيلو جرام من البروتين من وزنه الذى يبلغ ٥٠٠ كيلو جرام فى زمن قدرة ٢٤ ساعة. والعديد من الأغذية فيها محتوى بروتيني عالي إلا أنه ينقصها بعض البروتينات الأساسية فمثلا القمح ينقصه الحمض الأميني ليسين بينما الفول والبسلة ينقصهم الميثونين وعندئذ يجب إضافة هذه الأحماض الامينية الغائبة أو المتواجدة بصورة منخفضة والتي يمكن إنتاجها ميكروبيا الى علف الحيوان بما يحسن جودة الإنتاج

الحيواني.

أ- حامض الجلوتاميك

تستخدم بكتريا الـ Corynebacterium glutamicum في تخليق هذا المركب في الصناعة بكميات كبيرة. ويحتوى الوسط الغذائي الذى تنمى فيه البكتريا المنتجة لحمض الجلوتاميك على كربوهيدرات وبروتينات وأملاح غير عضوية وفيتامين البيوتين. وهذا الأخير له أهمية كبيرة في إنتاج هذا الحمض الأميني فهو يعتبر عامل ضروري ومؤثر في إنتاج هذا الحمض حيث انه إذا تم امداده (البيوتين) بنسب اقل من الحد الأمثل المناسب لنمو الميكروب فان هذا يؤثر على غشاء الخلية بما يجعله أكثر قدرة على نفاذ المواد خلاله فيسبب تسريب لهذا الحمض خارج الخلايا الى الوسط الخارجي. ويتم تخليق هذا الحمض الأميني بواسطة البكتريا من خلال تكوين حمض الفا كيتوجلوتاريك _مركب وسطى يتكون خلال دورة كربس_ الذى يتكسر بدوره الى حمض الجلوتاميك بواسطة انزيم dehydrogenase.

ب- حامض الليسين Lysine

تستخدم بكتريا الـ Brevibacterium flavum فى التخليق الحيوي على مستوى صناعي Industrial biosynthesis of lysine. وقد تم عزل مجموعة من الطفرات لهذه السلالة لها قدرة عالية على انتاج هذا الحمض الأميني أي ينقصها آلية تثبيط المنتج النهائي بحيث يمكن زيادة كمية الحمض المفرزة منها واستخدامها على نطاق صناعي. ويعتبر الليسين مكمل غذائي للإنسان الذى يقتصر غذائه على البروتينات النباتية، لأنه من المعروف أن البروتين النباتي يفتقد وجود هذا الحمض الأميني. وقد أمكن أيضا استغلال سلاسة معدلة وراثيا أيضا Corynebacterium glutamicum فى الإنتاج التجاري لهذا الحمض من خلال تعديل مسارات التخليق الحيوي في هذه السلالة مما يمكن من إنتاج كميات كبيرة منه.

٣- الأحماض النووية Nucleic acids

سجلت بعض الدراسات إمكانية الحصول على الأحماض النووية من الكائنات الميكروبية كنواتج أولية أيضية وعلى رأسها جنس العصويات. وقد تمكن عدد كبير من العلماء الحصول على بعض أنواع من البكتريا أمكن استغلالها صناعيا في إنتاج ثلاثة أنواع من النيوكليوتيدات لها خواص ترتبط بتحسين المذاق وتعطى بعض القوام لأنواع من الحساء ,monophosphates guanylic acis (GMP) inosinic acid (IMP) and xanthylic acid (XMP) عن طريق التلاعب في مزارعها أو في

العوامل الوراثية لهذه الأنواع.

٤- المضادات الحيوية Antibiotics:

بعض المضادات الحيوية أمكن انتاجها من الميكروبات بصورة كبيرة وخاصة الاكتينوميسيتات والتي تعتبر كائنات بكتيرية خيطية. وتعتبر المضادات الحيوية نواتج ثانوية لأيض الميكروبات حيث تنتج من عدد قليل من المواد البسيطة التي تنتج أولياً بفعل الميكروب كالأحماض الامينية والدهنية والسكريات والأحماض النووية. وهذه النواتج الثانوية تنتج عبر المسارات الكيميائية الحيوية للميكروبات.

وتعتبر التربة هي المصدر الرئيسي للحصول على الكائنات الدقية المنتجة للمضادات الحيوية حيت ملأ ملعقة شاي (تربة) تحتوى على مئات الملايين من البكتريا ومختلف الميكروبات الأخرى. ومن خلال الدراسات السابقة أمكن استنتاج أن الميكروب المنتج للمضاد الحيوي تختلف مقدرته الإنتاجية تبعا لاختلاف البيئة المنمى عليها حيث أن اختلاف البيئة وتنوعها يتيح الفرصة لنشاط بعض الميكروبات على حساب البعض الآخر، وبالتالي يؤثر على نوعية المضاد الحيوي المنتج. ومن المعروف طبعا أن المضادات الحيوية تستخدم لتثبيط نمو الميكروبات. أي أن بعض الميكروبات تنتج المضادات الحيوية لتثبيط نمو ميكروبات أخرى قد تكون ضارة جدا. وفى معظم الكائنات يتم إنتاج المضادات الحيوية خارج الخلية الى البيئة المحيطة ولكن في القليل منها تفرز المضادات الحيوية داخل الخلية الميكروبية نفسها.

وقد أفاد بعض الباحثون بأن البكتيريا التي تتغذى على مثيلاتها من الكائنات الدقيقة قد تستخدم كبديل للمضادات الحيوية. فقد خلص باحثون بريطانيون وألمان إلى أن البكتيريا المعروفة باسم "بدلوفيبريو" Bdellovibrio bacteriovorus قد تكون بديلا مفيدا للمضادات الحيوية التي تضعف فاعليتها وقدرتها على القضاء على الأمراض مع الوقت. فهذا النوع من البكتيريا يسبح بسرعات فائقة حيث يستشعر وجود أجسام أخرى غريبة ويقتحمها ويقضي عليها. وقد أشار الباحثون إلى أنهم يعكفون في الوقت الراهن على دراسة جينات هذه البكتيريا لمعرفة كيف تشن هجماتها على الأجسام الغريبة. ويذكر أن العديد من الأمراض الشائعة بدأت تكتسب مناعة ضد المضادات الحيوية التقليدية. وفي الوقت الذي يتم فيه تطوير أنواع جديدة أكثر قوة من المضادات الحيوية يجري البحث عن بدائل لهذه المضادات.

وجدير بالذكر أن بكتريا "بدلوفيبريو" Bdellovibrio bacteriovorus معروفة لدى العلماء منذ فترة، إلا أن قدراتها على محاربة العدوى لم تخضع لدراسة كافية حتى الآن. غير أن فريق الباحثين الذين يضم علماء من معهد "ماكس بلانك" لعلوم البيولوجيا الارتقائية وجامعة نوتنجهام، انتهى مؤخرا من وضع الخريطة الجينية لهذه البكتريا. ومبدئياً يأمل العلماء أن يتمكنوا من تطوير دواء قادر على القيام بنفس التفاعلات الكيميائية التي تقوم بها البكتريا لاختراق الكائنات الدقيقة الأخرى والقضاء عليها، ولكن هدفهم الأبعد هو أن يتمكنوا يوما من تجنيد تلك البكتريا نفسها داخل جسم الإنسان للقضاء على الميكروبات التي تصيبه. وتمتاز هذه البكتريا Bdellovibrio بدورة حياة معقدة حيث تستشعر أول الأمر

"فريستها" من الكائنات الدقيقة الأخرى عن طريق المواد الكيماوية التي تفرزها، ثم تندفع نحوها بسرعة فائقة. وبمجرد أن تصطدم البكتريا بالخلية المستهدفة للكائن الدقيق فإنها تتعلق بها وتمد أليافا تشدها إليها. وبإمكان البكتريا عندئذ إفراز مواد كيماوية تمكنها من ثقب الجدار الخلوي للجسم المستهدف، ثم تقوم بدفع نفسها داخل هذا الجسم لتبدأ في التهام الخلية الأخرى من الداخل. وتستخدم البكتريا ما تستمده من فريستها في النمو والتكاثر، قبل أن تنطلق مستهدفة خلايا أخرى.

وهناك أنواع مختلفة من المضادات الحيوية يتم انتاجها بواسطة البكتريا كما فى الجدول التالى:

Antibiotics produced by Bacteria :

Bacterial Species Antibiotic

Streptomyces remosus –Tetracycline

Streptomyces griseus –Streptomycin

Streptomyces griseus –Cyclohexamide

Streptomyces frodiae –Neomycin

Streptomyces orchidaceus –Cycloserine

Streptomyces erythreus –Erythromycin

Streptomyces kanamyceticus –Kanamycin

Streptomyces lincolnensis– Lincomycin

Streptomyces noursei– Nystatin

Bacillus polymyxa –Polymyxin B

Bacillus licheniformis– Bacitracin

٥– القلويدات Alkaloids

تنتج هذه المركبات من بعض أنواع البكتريا والفطريات وكذلك من النباتات الراقية وخاصة العائلة البادنجانية. وهذه المركبات لها أهمية كبيرة في الصناعات الدوائية وهى تشتق من الأحماض الامينية أي أنها نواتج أيضية ثانوية يتم تخليقها من نواتج أولية أيضية وهى الأحماض الامينية. وتتصف بطعمها المر bitter taste . وعلى الرغم من أن بعض هذه المركبات سام إلا أن البعض الاخر قد يستخدم ويصنع دوائياً كمسكنات للآلام ومضادات للالتهاب مثل المورفين والكوديين.

الأجسام المضادة

هي عبارة عن بروتينات نوعية تجول في الدم واللمف للكائنات الحية الفقارية ، وتتشكل لدى التقاء اللمفاويات البائية مع مستضدات مستمنعة immunogenic antigens بحيث ترتبط بألفة عالية مع هذه المستضدات

يمكن لغالبية البروتينات الغروية وعديدات السكاريد الدهنية أن تكون مستضدات مثل الجزيئات الضخمة التي تكون سطح الفيروسات والخلايا المجهرية والطفيليات إضافة إلى البروتينات السامة وبالتالي تؤدي إلى تحفيز تشكل أجام مضادة

حتى المركبات ذات الوزن الجزيئي الصغير يمكن أن تحفز تشكيل الأجسام الصادة إذا وجدت على سطح بنى مستمنعة بقوة تعرف بالناشبة hapten

أما في الأمراض المناعية الذاتية فإن بروتينات الكائن الحي نفسه تصبح غريبة وتقوم بتطوير خصائص مستضدة

تستخدم الأجسام المضادة منذ وقت طويل في علاج الإصابات والسموم (مثل علاج عضات الأفاعي) بالتمنيع السلبي passive immunization فهي تملك قيمة كبيرة كمجموعات مبلغة reporter groups في التحليل المناعي immunoanalysis

ملاحظة : الناشبة هي جزيء صغير يمكن أن يثير استجابة مناعية فقط عند ارتباطه بناقل كبير مثل البروتين وقد يكون الناقل لا يثير استجابة مناعية بنفسه

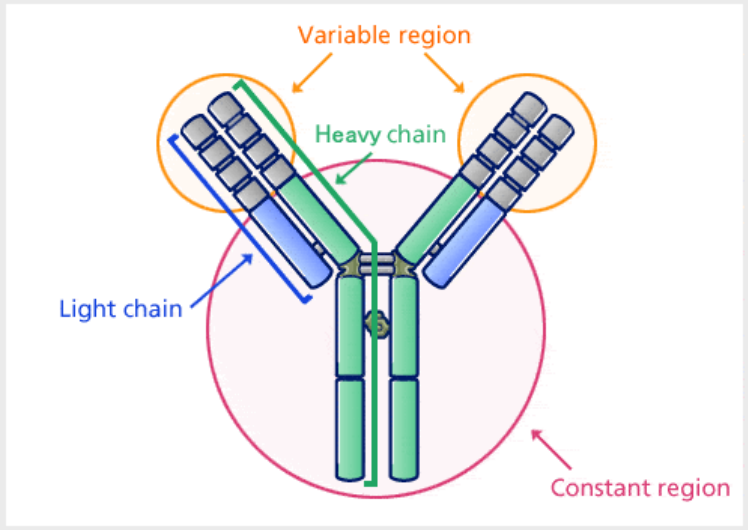
بنية الأجسام المضادة:

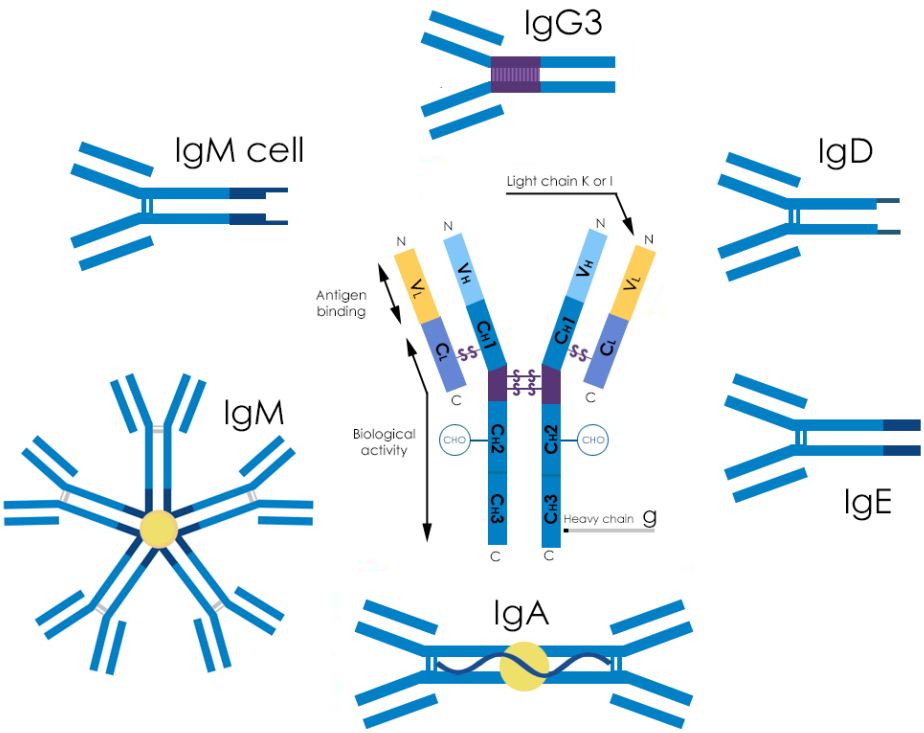
تنتمي الأجسام المضادة إلى الغلوبيولينات المناعية immunoglobulins IG وهي تصنف عند الانسان في خمس مجموعات : IgG, IgM, IgA, IgE, IgD وتلعب أدوراً مختلفة في الدفاع المناعي

إن الـ IgG هو الغلوبيولين المناعي المسيطر في المصل وهي عبارة عن جسم مضاد ثنائي الأجزاء غير المتجانسة heterodimer antibody مكون من :

- سلسلتين متماثلتين خفيفتين light chain L
- سلسلتين ثقيلتين heavy chain H مرتبطتين ببعضهما البعض بجسور سيستئين cysteine bridgs

- تملك هذه البنى قطاعات domains ذات تسلسل ثابت CH , CL constant وقطاعات ذات تسلسل متغير VH , VL Variable يمكن تمييزها في السلاسل الثقيلة والخفيفة.
- إضافة لذلك ترتبط منطقة FC (من الجسم المضاد بالمستقبل) ومنطقة Fab (التي تكون شديدة التغير) hypervariable بالمستضد .

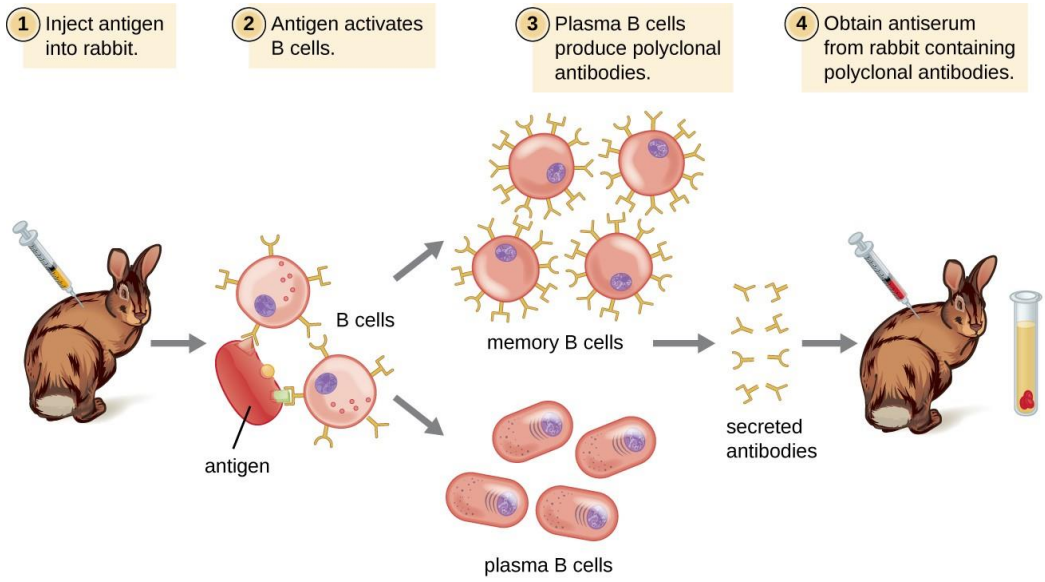


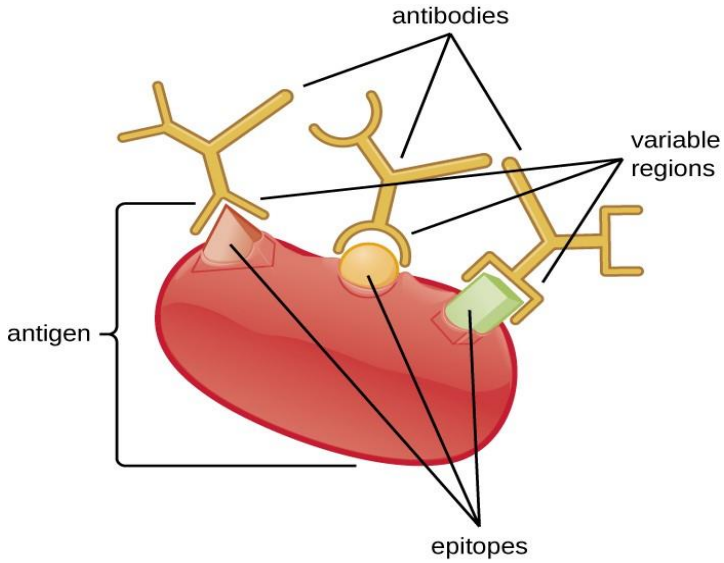


- **التصنيع الحيوي Biosynthesis**
- تصنع الأجسام المضادة بواسطة الخلايا اللمفية البائية B–LYMPHOCYTES التي تملك حوالي ١٠٠٠ مجموعة من قطع الجينات المتوفرة
- تجتمع قطع الجينات بشكل عشوائي (الخلط الجيني) لتشفير المنطقة المتغيرة VARIABLE REGION من الغلوبيولينات المناعية

١ – الأجسام المضادة عديدة النسيلة polyclonal antibodies:

- هي عبارة عن مزيج من الأجسام المضادة المختلفة الموجهة نحو محدد مولد الضد epitope= antigenic determinantفي نفس المستضد antigene
- يتم الحصول عليها بتمنيع حيوانات مثل الأرنب ، النعاج، الماعز، الخيول ، حيث يمكن من خلال التمنيع المتكرر بعد فترات فاصلة تبلغ عدة أسابيع ثم استخلاصها من الدم ، الحصول مراراً على دفعات (تحضيرات) متشابهة من الأجسام المضادة بالترسيب وبالكروماتوغرافيا.





- **مخاطر الأجسام المضادة عديدة النسيلة:**
- تعطى الأجسام المضادة في عالج الانسان حقناً أي ليس عن طريق الفم لأنها غير ثابتة ويمكن أن تتخرب في الجهاز الهضمي
- كما يتعرف جهاز المناعة لدى الانسان على هذه الأجسام المضادة التي تم الحصول عليها من الحيوانات على أنها غريبة وتحفز جهاز المناعة خاصة بعد الحقن المتكرر
- يمكن حل هذه المشكلة بتغيير مصدر الأجسام المضادة والحصول عليها من أنواع حيوانات مختلفة
- أو كبديل يمكن الحصول عليها من دم متبرع إلا أنه وعلى الرغم من إخضاع دم المتبرع إلى فحص دقيق قبل الاستخدام إلا أن خطر التلوث بفيروس التهاب الكبد أو الـ AIDS يبقى قائماً
- **التطبيقات :**
- تستخدم الأجسام المضادة بشكل رئيسي في تشخيص وعلاج الأمراض البشرية
- كأدوات تحليلية في البيولوجيا الجزيئية والخلوية
- في التحاليل الغذائية والبيئية
- حالياً يتم تطوير الخلايا المناعية لكشف الخلايا السرطانية والقضاء عليها بتقانة (كريسبر)

٢-الأجسام المضادة وحيدة النسيلة monoclonal antibodies:

- خلافاً للأجسام المضادة عديدة النسيلة المأخوذة من حيوانات ممنعة ، التي تتكون من مزيج أجسام مضادة موجهة ضد نفس المستضد ، فإن الأجسام المضادة وحيدة النسيلة تكون

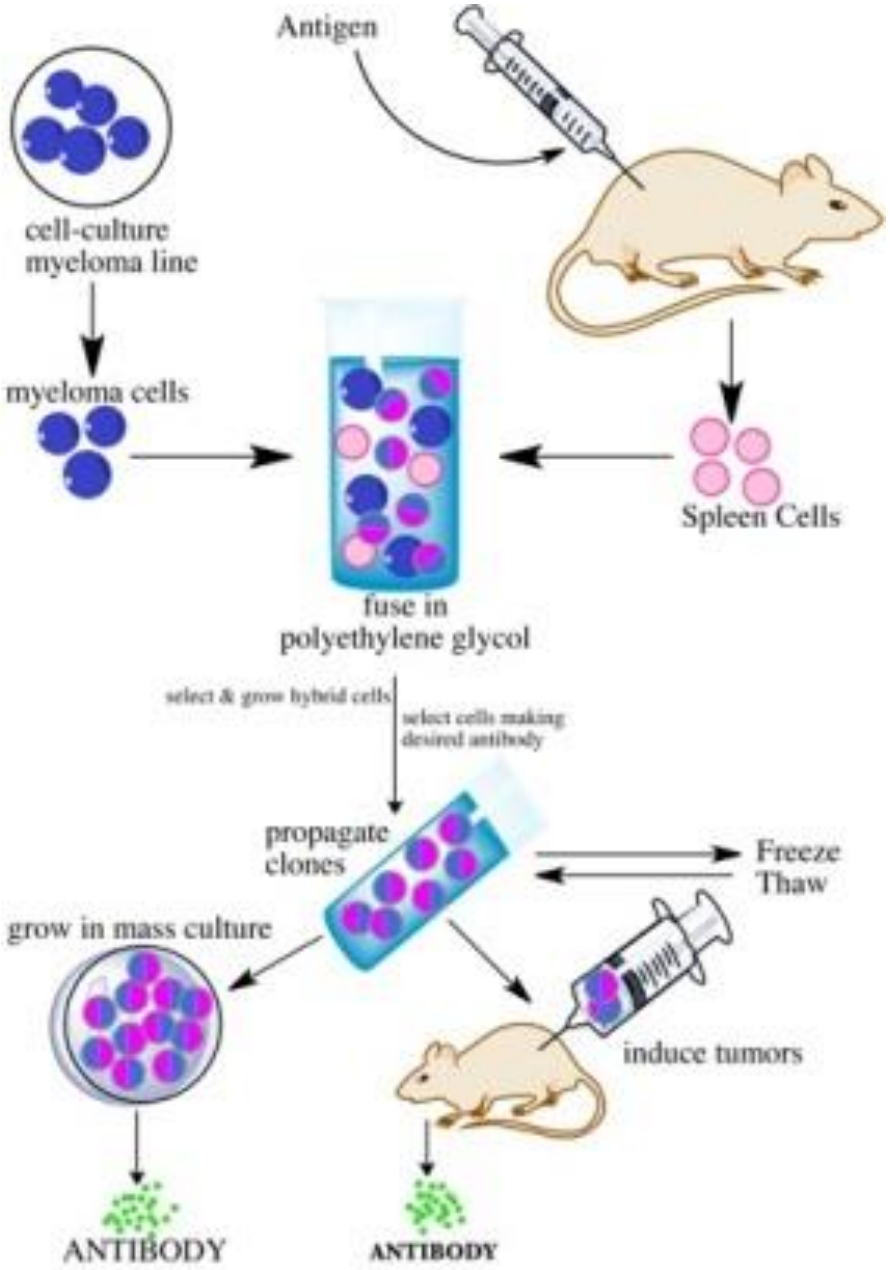
متجانسة أي تتكون من نوع واحد من الأجسام المضادة ذات انتقائية selectivity وفعالية activity محددة وهي تصنع باستخدام خلايا ورمية هجينة (hybridoma)

- تقانة الورم الهجين hybridoma technology:
- يتم فيها حقن حيوان التجربة بالمستضد (عادة الفئران)
- ثم عزل لمفاويات الطحال و دمجها في الزجاج in vitro مع خلايا ورمية من الفأر (خلايا نخاع ورمية myeloma cells ، لتعطي خلايا قادرة على الانقسام إلى أجل غير مسمى في المزرعة
- بعض هذه الخلايا الورمية الهجينة يقوم بالتعبير عن أجسام مضادة على سطحه ضد المستضد
- وبالتالي يمكن عزل هذه الخلايا باستخدام معايرات مناعية immunoassays واجراءات الكلونة الخلوية
- في النهاية يتم تجميد السائل الأكثر إنتاجاً تحت درجات حرارة منخفضة تجعلها ثابتة لسنوات عدة.
- تسمح هذه الطريقة بإنتاج أجسام مضادة وحيدة النسيلة نقية موجهة ضد عدد غير محدود من مستضدات وناشبات.
- **الأجسام المضادة المؤنسنة (humanized antibodies):**
- لا يوجد حمض اميني فأري وحمض أمين بشري ولكن يوجد تسلسل يتعرف عليه الجهاز المناعي الفأري وآخر يتعرف عليه البشري فمثلاً تسلسل لايزين – ايزولوسين – آلانين خاص بالأضداد الفأرية ولايوجد عند البشر، ومن هنا جاءت فكرة الأجسام المضادة المؤنسنة.
- إن الأجسام المضادة وحيدة النسيلة الفأرية murine antibodies تحمل خطر إثارة الاستجابة المناعية لدى استخدامها في العلاج أو التشخيص داخل جسم الانسان كما أن قطعتها الثابتة المسماة Fc قد لا ترتبط بشكل صحيح مع المستقبل البشري ، إضافة إلى أن تجارب تمنيع الانسان غير أخلاقية ومن الصعب الحفاظ على خلايا النخاع الورمية البشرية في المزرعة.
- لذا تم تطوير إجراءات أخرى لتأمين أجسام مضادة بشرية .على سبيل المثال:
- تبين أن مزارع الخلايا اللمفاوية البشرية تنتج أجساماً مضادة وحيدة النسيلة إذا تواجد المستضد مع بعض عوامل النمو والسيتوكينات (تمنيع في الزجاج).
- تم الحصول على جسام مضادة وبعد تنمية لمفاويات بشرية في طحال فأر مصاب بعوز مناعي immunodeficient .

- تم الحصول على أجسام مضادة مؤنسنة مأشوبة تحمل قطع CDR فأرية ضمن الجسم الأساسي للجسم المضاد البشري (التطعيم Grafting) .

التطبيقات:

- يمكن استخدام الأجسام المضادة وحيدة النسيلة كمستحضرات دوائية حيوية لعلاج عدة أمراض مثل الأورام.
- تعتبر من المستحضرات الدوائية المفتاحية المحضرة في مزارع خلايا ثديية.
- يوجد حالياً أكثر من ١٠ أجسام مضادة وحيدة النسيلة مسجلة للعلاج ، واكثر من ١٠٠ وصلت إلى مرحلة الاختبارات السريرية .



٣-الأجسام المضادة المأشوبة Recombinant antibodies:

- تمكن طرائق الهندسةالوراثية من التعبير عن الأجسام المضادة الطبيعية أو المعدلة في كائنات حية مضيفة . فإذا تم استخدام كائنات مجهرية ، تتشكل عادة قطع الأجسام المضادة وبشكل خاص قطع (Fc, Fab).
- لقد تم الحصول على أجسام مضادة مأشوبة كاملة في خلايا حقيقية النوى ، وفي نظام الفيروس العصوي baculovirus وفي النباتات المحورة وراثياً لتعطي أجساماً مضادة نباتية، وفي حليب حيوانات محورة وراثياً وهي تملك إمكانيات كبيرة في العلاج والتشخيص.
- التصنيع:

- إن المادة الوراثية البادئة هي الـ c DNA المشتق من m RNA لخلايا النخاع الورمية المتشكلة في حيوانات مخبرية ممنعة أو من خلال mrna اللمفاويات البائية بعد أن يتم إدخال المادة الوراثية داخل الكائن المضيف يتم التعبير عن هذه الأجسام المضادة أ، قطع من الأجسام المضادة مثل Fc , Fab

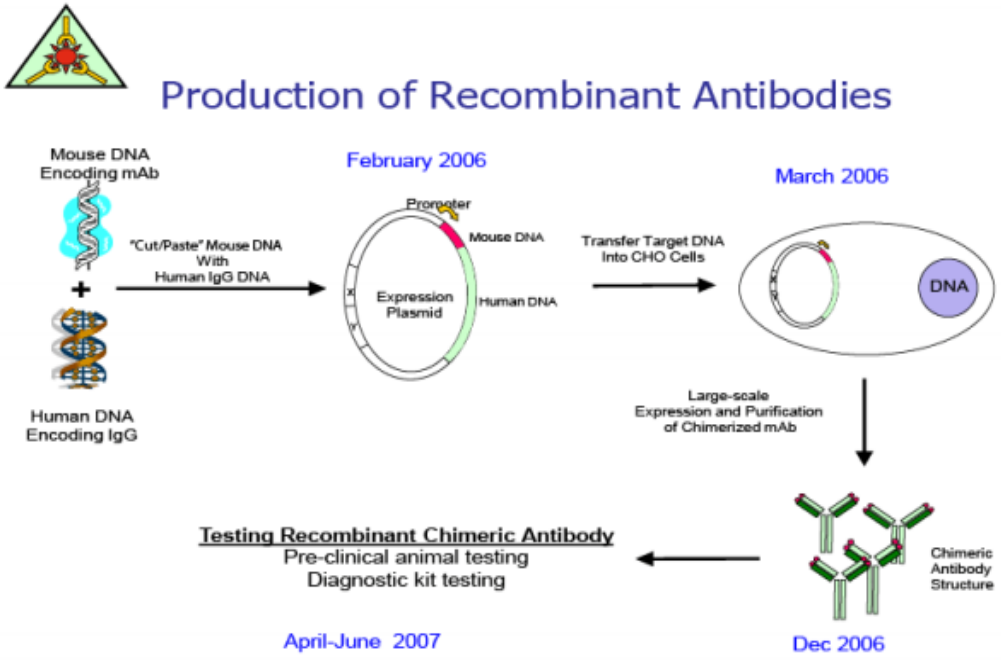


Figure 3: Production of recombinant monoclonal antibody.

- بعض الأمثلة عن الأجسام المضادة المستخدمة في المجال الطبي
- **الأجسام المضادة لعامل الريزوس** D (Anti–D immunoglobulin):
- بالإضافة لمستضدات مجموعات الدم الرئيسية (A,B) يوجد عدد من المستضدات التي تختلف بين أفراد النوع الواحد ، من هذه المستضدات : مستضدات الريزوس Rh–antigen من أهم المستضدات مستضد D (D antigen) .
- عندما تصبح المرأة سالبة الريزوس حاملاً و زوجها موجب الريزوس فإن الجنين في هذه الحالة يكون موجب الريزوس ، أثناء فترة الحمل تصل كميات قليلة جداً من الكريات الحمراء للجنين لدم الأم ، وهذه الكمية غير كافية لتحفيز كبير لجهاز المناعة ، ولكن عند الولادة

الاولى تصل كميات كبيرة من دم الجنين إلى دم الام مما يجفز جهاز المناعة وتكتسب مناعة ضد عامل الريزوس .

- عندما تحمل الأم في المرات القادمة فإن الأجسام المضادة المتشكلة عند الأم تستطيع عبور المشيمة وتصل لدم الجنين عندها ترتبط هذه الأجسام المضادة بالكريات الحمراء عند الجنين وتسبب تحللها وهذا يتسبب بمضاعفات طبية عند المولود الذي يعاني من انحلال الدم الولادي erythroblastosis fetalis .
- بعد كل حمل تكتسب الأم كميات من الأجسام المضادة لعامل الريزوس D وتكون كمية هذه الأجسام كافية لتحديد حياة الجنين ، لحل هذه المشكلة ، تعطى الأم سالبة الريزوس بعد الولادة الاولى مباشرة حقنة من الأجسام المضادة لعامل الريزوس ، حيث تقوم هذه الأجسام المضادة بالارتباط مع كريات الدم الحمراء (القادمة من الجنين) وتعمل على تحطيمها دون أن تحفز جهاز المناعة لدى الأم .
- تعطى الأم عادة ٢٠٠-٣٠٠ ميكروغرام بعد الولادة مباشرة وهي كمية كافية لتثبيط استجابة مناعية من كمية دم جنيني موجب الريزوس تصل إلى ١٠ مل.
- **الأجسام المضادة لالتهاب الكبد الفيروسي B (Hepatitis B):**
- تعتبر الأجسام المضادة لالتهاب الكبد الفيروسي مثالاً عن الأجسام المضادة ذات الانتقائية لنوع معين من العوامل الممرضة وهو في هذه الحالة فيروس التهاب الكبد B
- يستحصل على الأجسام المضادة لالتهاب الكبد من تنقية مصل معطي يمتلك كميات كبيرة من الأجسام المضادة لمستضد الفيروس المتسبب بالتهاب الكبد.

- تعطى هذه الأجسام المضادة للأشخاص الذين هم على تماس مع مصابين بهذا الفيروس مثل : مولود جديد أصيبت أمه بالفيروس حديثاً.
- **الأجسام المضادة للكزاز العضلي (Tetanus immunoglobulin):**
- تعتبر الأجسام المضادة للكزاز مثالاً عن الأجسام المضادة المحفزة للتمنيع السالب ضد سم بكتيري .
- الكزاز : مرض معدي تسببه بكتريا clostridium tetani تلوث الأبواغ البكتيرية بشكل شائع سطوح الجروح حيث تنمو وتتضاعف وتنتج سماً ، يتداخل هذا السم مع الوظائف العصبية الطبيعية وخصوصاً في منطقة الاتصال العصبي العضلي ينجم عن هذا تقلصات عضلية إذا لم يتم علاجها فإن احتمال الوفاة يكون كبيراً.

- يتم تنقية الأجسام المضادة من مصل معطي مُنّع سابقاً (أعطي لقاحاً) ضد الكزاز.
- الأجسام المضادة لسم الأفاعي والعناكب snake and spider antivenins.
- تستخدم الأجسام المضادة متعددة النسيلة ضد سم الأفاعي والعناكب عند التعرض للعض والإعطاء السريع عقب التعرض للعض يقلل من خطر الموت بشكل كبير .

- يتم تحضير هذه الأجسام المضادة عن طريق حقن حصان سليم بسم مثبط الفعالية inactived وبعدها يتم تنقية الأجسام المضادة.
- **التهاب المفاصل الريثاني Rheumatoid arthritis:**
- مرض مناعي ذاتي مزمن يهاجم فيه جهاز المناعة الغشاء الزلالي المبطن للمفاصل وأغشية الأربطة العضلية مسبباً التهاباً وتخريباً للغضاريف وتآكلاً في العظام خصوصاً في المفاصل الصغيرة (اليد – المعصم – القدم) مما يؤدي إلى تورم وحرارة و ألم في المناطق المتأذية .
- يشترك في الحادثة الالتهابية عدداً من الخلايا المناعية النشطة كاللمفاويات البائية والتائية التي تحرر بدورها العديد من السيتوكينات المحفزة للالتهاب ، بالنسبة للعلاج يمكن تقسيم الأدوية المستخدمة لعلاج الأمراض الروماتويدية الرثوانية ل ٣ مجموعات :
- NSAIDS
- CORTICO STECOIDS
- DMARDS: الأدوية المعدلة لطبيعة المرض.
- تقسم ال DMARDS إلى مجموعتين : الجزيئات الصغيرة الصنعية والبيولوجية ،تقدم الأدوية البيولوجية خطأ علاجي جديد معتمد على نتائج الدراسات الحديثة التي أظهرت بأن الحوادث الالتهابية المناعية هي من يؤدي إلى حدوث RA من هذه الأدوية البيولوجية ريتوكسيماب Rituximab.
- **B-Cell depleting agent: Rituximab (Rituxan TM):**
- وهو عبارة عن جسم مضاد وحيد النسيلة : عندما يرتبط مع المستقبل CD 20 الموجود على سطح اللمفاويات البائية فإن معقد ضد – مستضد يجنب عوامل مناعية أخرى مثل الخلايا القاتلة Killer cell التي لديها مستقبلات تميز وترتبط مع rituxan كما أنها تحمل حبيبات غنية بجزيئات سامة للخلايا ، فعند ارتباطها تطلق محتوياتها الحبيبية التي ستخترق الغشاء الخلوي مما يؤدي إلى موت الخلايا .

التهاب المفاصل الروماتويدي