جامعة حماة

كلية الصيدلة

السنة الخامسة

مقرر التقانة الحيوية

المحاضرة السادسة

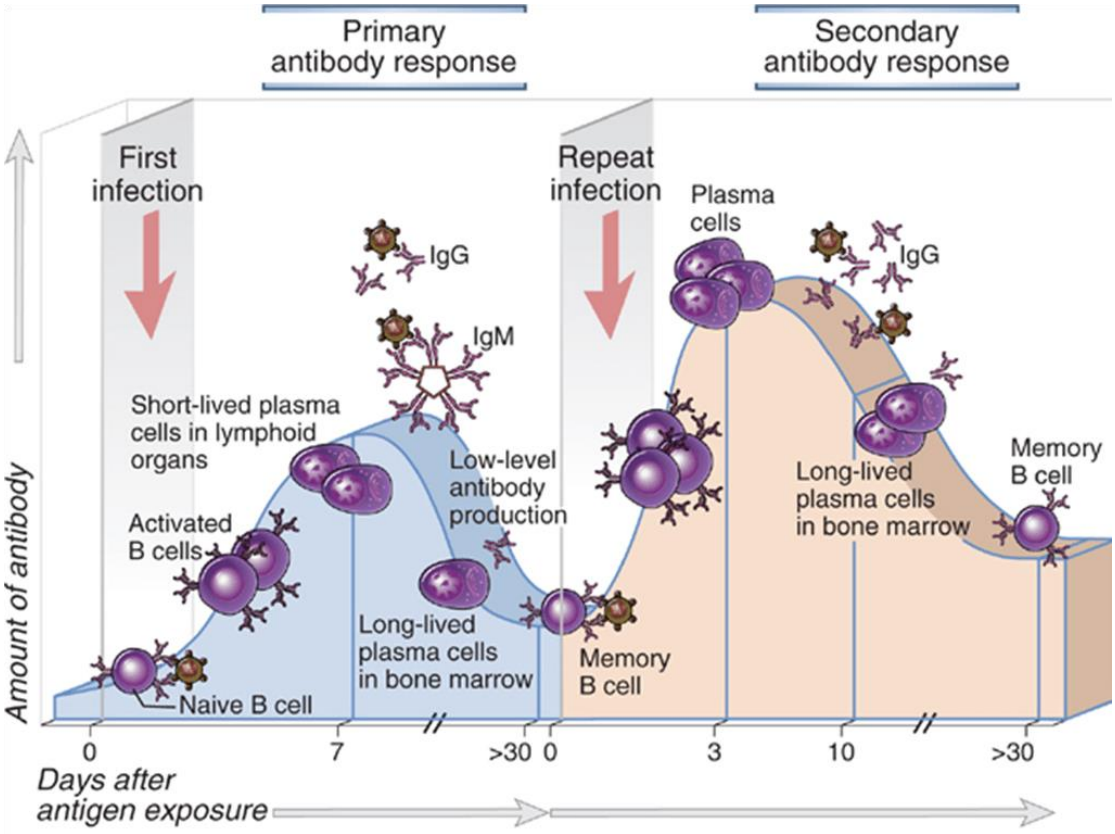
اعداد : ابتسام جرجنازي

إشراف : د. ظلال قطان

اللقاحات vaccines

مستحضرات بيولوجية توفر المناعة المكتسبة الفاعلة ضد مرض معين، عادة يتكون اللقاح من عامل بيولوجي يمثل الكائن الحي الدقيق المسبب للمرض .

يمكن الحصول على حماية أفضل إذا ما تم تنشيط الجهاز المناعي لإنتاج الأجسام المضادة المناسبة من خلال حقن اللقاحات وهذا ما يعرف بالتمنيع الفعال active immunization بعد التمنيع يقوم جهاز المناعة بإنتاج اللمفاويات البائية B lymphocytes التي تفرز أجساماً نوعية خاصة antibodies بالعامل الممرض واللمفاويات التائية التي تحطم المادة الغريبة ، وخلايا الذاكرة البائية والتائية طويلة العمر التي تتفاعل مع الاستجابة المناعية فورا في حالة ظهور المستضد مجدداً.

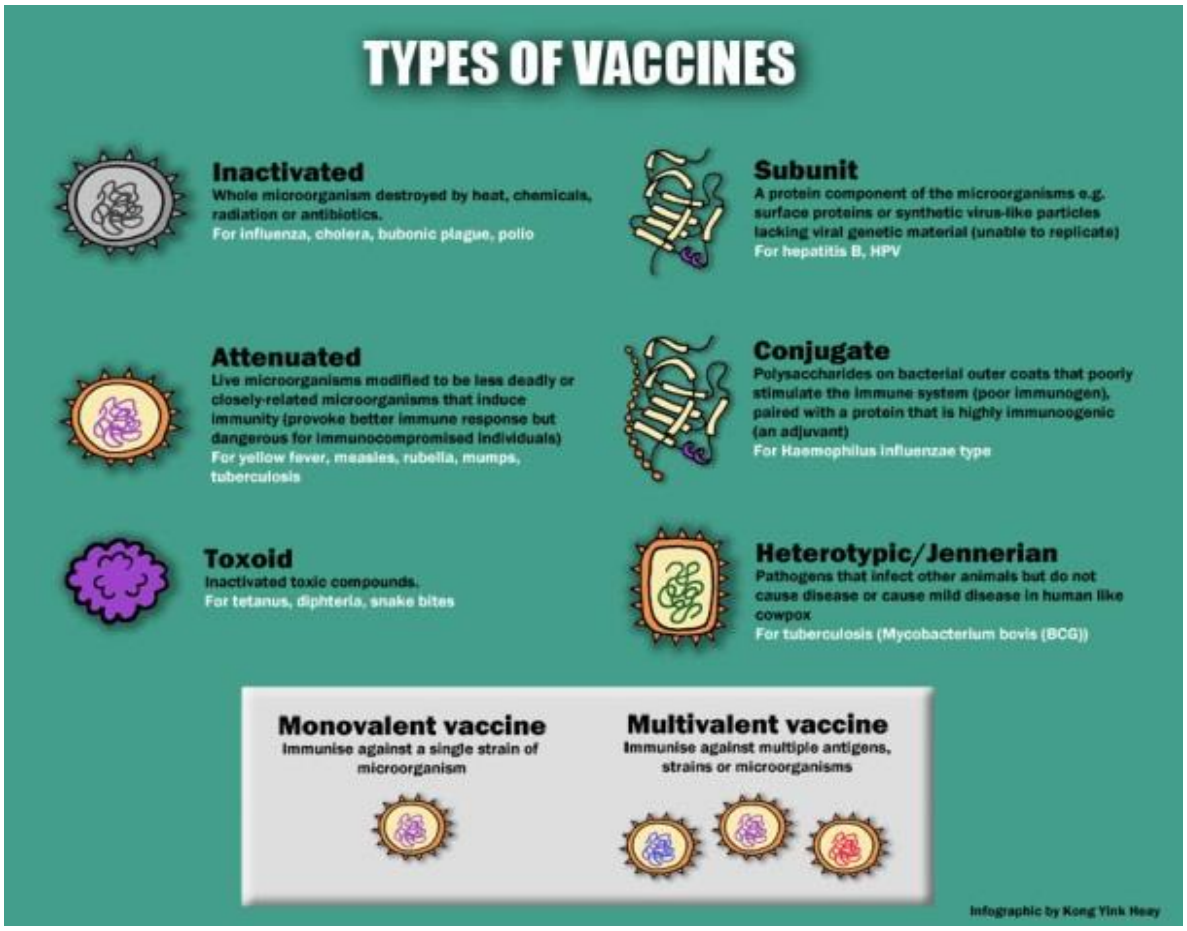


يمكن أن تكون اللقاحات عبارة عن خلايا كاملة أو مكونات خلوية مثل عديدات السكريد الدهنية للجدار الخلوية أو بروتينات سامة .

لذلك تستخدم مواد مستضدة معطلة inactivated أو فيروسات مضعفة مخففة attenuated أو

كائنات مجهرية مازالت مستمنعة لكنها فقدت خصائصها الممرضة .

لقد تم خلال العقود الماضية إنتاج أعداد كبيرة من اللقاحات لحماية الانسان ، مثلاً ضد الحصبة والخانوق والكزاز والسعال الديكي والسل والكوليرا وشلل الأطفال ، وبالرغم من هذا التطور مازال عدداً لا بأس به من الأمراض بدون لقاح متاحـ فهناك طيف واسع من الأمراض المدارية وفيروس ال AIDS مقاومة للتلقيح . إلا أنه ولحسن الحظ فتحت طرائق الهندسة الوراثية طريقاً جديداً لتحضير اللقاحات عالية النقاوة الجديدة.



تحضير اللقاح VACCINES PREPARATION

تتمثل الطريقة التقليدية بتحضير مادة مستضدة antigenic معطلة inactive أو مخففة attenuated لتعطى تحت الجلد أو داخل العضل أو عن طريق الفم.

عادة ما تستخدم سلالات مرضية فقدت خصائصها الإمراضية لكنها مازالت منشطة للاستجابة المناعية ، كما أنه وكبديل عن ذلك يمكن زرع العامل الممرض أولاً في المختبر ثم القيام بتعطيله عن طريق التسخين أو المعالجة بالفورم ألدهيد ، مع المحافظة على مقدرته على تحفيز جهاز المناعة .

حتى عام ١٩٧٠ كانت تنتج الفيروسات في أجنة بيوض الدجاج ثم يتم تنقية الغلاف البروتيني للفيروس من ألبومين البيض ليستخدم في التلقيح.

مثال: لقاح ضد الكزاز:

يحدث الكزاز tetanus بسبب إصابة جرح ما ببكتريا Clostridium tetani التي تقوم بإفراز بروتين عصبي سام يتم نقله بالدم إلى الأعصاب ، مما يؤدي إلى شلل تصلبي (تشنجي).

لتحضير سم الكزاز ، تزرع سلالة بكتيرية عالية الإنتاجية لهذا السم في مفاعل حيوي تتحلل ذاتياً عند انتهاء نموها وبالتالي يتحرر السم ، وبعد إزالة أشلاء الخلايا بالترشيح يتم تعطيل السم لمدة أربع أسابيع بمحلول الفورم ألدهيد للحصول على سم معطل toxoid الذي تتم تنقيته بالترشيح والترسيب الملحي وفي النهاية تختبر قدرة اللقاح في التحضير على تحفيز جهاز المناعة والتحمل على الحيوانات.

اللقاحات المأشوبة recombinant vaccines

فتحت اجراءات الهندسة الوراثية إمكانيات جديدة لتحضير اللقاحات ، فهي تتيح تصنيع مكونات اللقاحات بنقاوة عالية ، كما أنها تقود إلى استراتيجيات تلقيح جديدة.

غير أنه للآن لم يصل إلى الأسواق العالمية إلا مكون لقاح مأشوب واحد وهو يمنع الإصابة بالتهاب الكبد Hepatitis B ويسوق تحت اسم Recombivax

الاستراتيجيات strategies

يمكن باستخدام طرائق الهندسة الوراثية للحصول على مركب لقاحات موجه نحو مكونات الخلية المنفردة من العامل الممرض مثل بروتينات السطح.

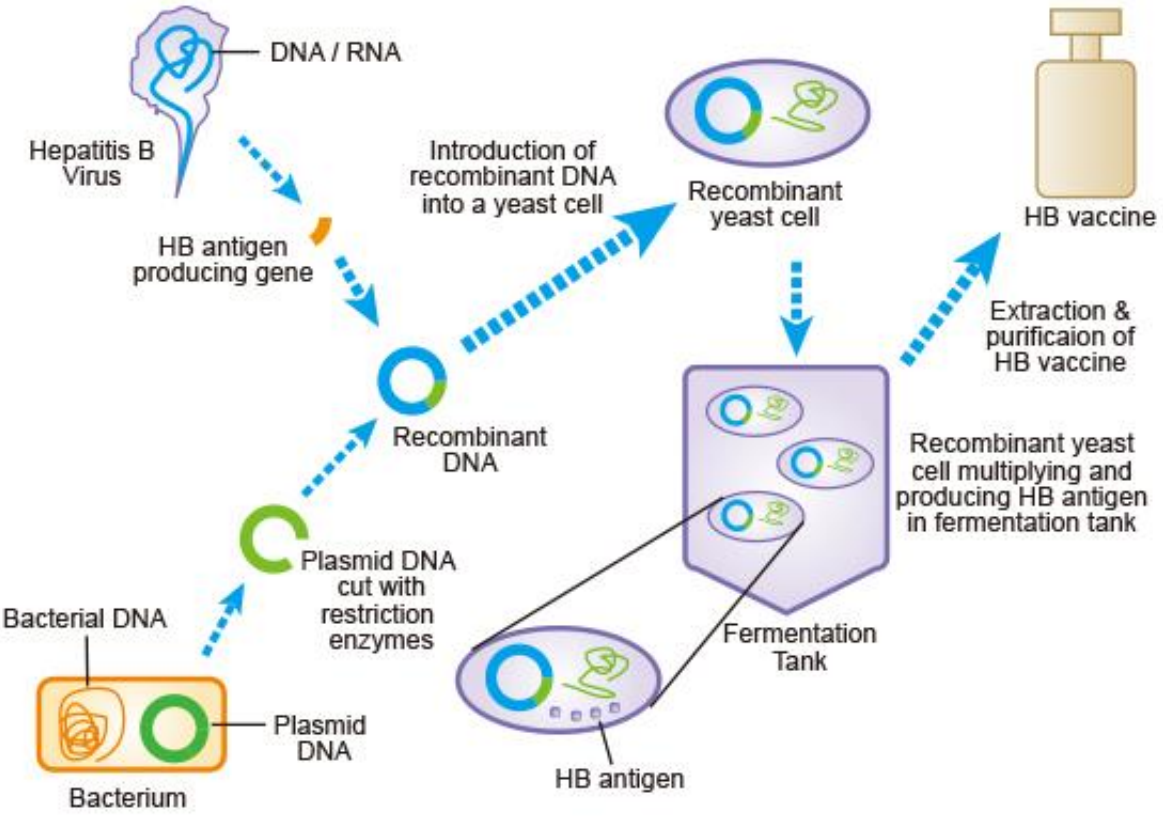
لكن هذه العملية تستوجب معرفة المكونات المستمنعة أي المحفزة لجهاز المناعة عند الممرض.

الاستراتيجية الأولى: Recombinant (protein subunit) vaccine

المثال الناجح على هذه الاستراتيجية هو إنتاج لقاح التهاب الكبد B المأشوب، يعتبر التهاب الكبد B في بلدان عديدة من آسيا مرضاً متوطناً لم يكتشف في ٩٠% من الحالات ويؤدي إلى مرض كبدي مزمن عند ٥% من المرضى ويقدر عدد الأشخاص الذين يعانون منه بحوالي بليون شخص.

ولتحضير اللقاح المأشوب الخاص بهذا المرض:

١- تم عزل جين مستضد السطح HbsAg لفيروس التهاب الكبد B من بلازما الدم لمرضى مصابين به.
٢- تم سَلْسَلته (معرفة تتالي النكليوتيدات، ثن تم انتساخه CLONING
٣- ثم يتم التعبير عن هذا الجين في اللقاح في ال E.coli أو خميرة Saccharomyces cervicia
٤- يجري بعدها تنقية لهذا البروتين الذي تم إفرازه عن طريق الكروماتوغرافيا



<u>الاستراتيجية الثانية تم اقتراح ناقل لقاحات vector وهو يتضمن التلقيح ب DNAفيروسي:</u>

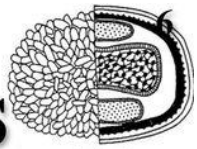
يتم تعديل DNA الفيروسي من أجل أن يشفر للبروتينات المستمنعة المرغوبة لكنه فاقد لكل العناصر الممرضة.

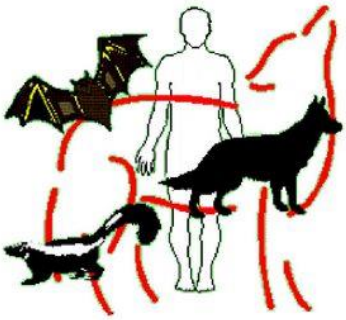
لذلك تم اختيار فيروس جدري القطعان Cattle pox virus أو الفاكسينيا vaccinia للاستخدام كناقل كونه عالي القدرة على العدوى infictive لكنه غير مؤذي للإنسان على الاطلاق ، حيث تمت هندسة مستضدات فيروسية في جينوم الفاكسينيا بنجاح ، كما أدت بعد الإصابة إلى التمنيع ضد البروتين G لفيروس داء الكلب Rabis virus والمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد B وبرتينات لفيروس الانفلونزا كالبروتينات النووية NP أو البروتين السطحي Hemagglutinin.

إلا أن المفهوم العام لهذه الاستراتيجية اعتبر غير آمن بشكل كاف خاصة بالنسبة إلى الأطفال أو المرضى المكبوحي المناعة immunosuppressed

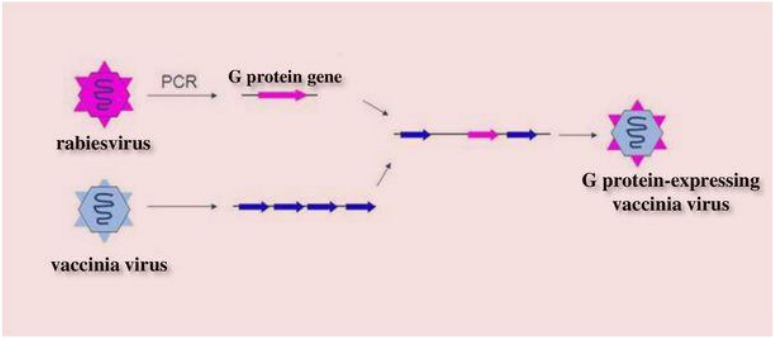
Recombinant vaccines

poxvirus vector





rabies

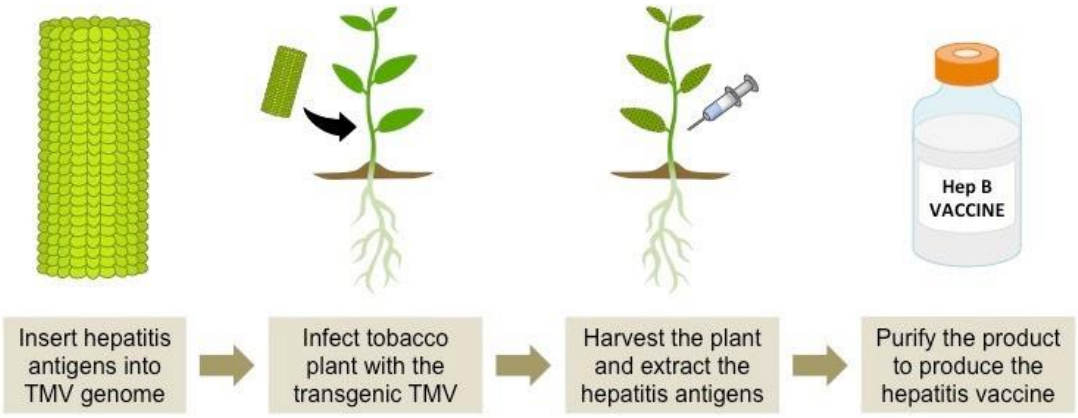


rabies virus

الاستراتيجية الثالثة: النباتات المحورة وراثياً transgenic plants

لقد تم اقتراح استخدام النباتات المحورة وراثياً في برنامج التلقيح في الدول النامية (اللقاحات القابلة للأكل مثل الموز المحور وراثياً) وبما أنه سيتم تناول اللقاح عن طريق الجهاز الهضمي فإن فعاليته تتعلق بثباته أثناء عبوره المعدة والأمعاء عبر الأغشية المخاطية ، حيث يجب أن ينشط الجهاز المناعي للأمعاء الدقيقة لإنتاج الأجسام المضادة ، إلا أن هذا المفهوم أيضاً أثار العديد من الأسئلة التنظيمية والرقابة كسلوك البروتين المستخدم في اللقاح عند نضج أو فساد أو معالجة الفواكه أو المنتجات الغذائية الأخرى.

مثال : لقاح ضد الانفلونزا لشركة Medicago لا يزال في الطور الثاني من التجارب السريرية حيث اعتمد على نبات التبغ في انتاجه.



الاستراتيجية الرابعة : لقاحات الـ DNA vaccine :

بعد حقن الـ DNA الذي يشفر للبنى السطحية لعامل الملاريا الممرض Plasmodium falciparum في طحال الفأر قامت هذه الحيوانات الملقحة بإنتاج أجسام مضادة ضد هذا الطفيلي.

وعلى نحو مشابه من التجارب باستخدام جزء من جينوم الـ Mycobacterium tuberculosis الممرضة والمسببة لداء السل فقدت أدت إلى تفعيل الخلايا التائية كما سمحت بالتعرف على منتجات الجين المستنسخ مؤدية إلى نشوء استجابة مناعية.

في كلتا الدراستين تم إدخال الـ DNA النوعي بالمستضد antigen في بلازميدات ، إلا أ، هذه الطريقة الحديثة والمثيرة للاهتمام مازالت في طور البداية.