بررسی خصوصیات آنتی‌ژن‌های سطحی اسپرم انسان توسط آنتی‌بادی منوکلونال HS56

سید احمدرضا محمودی(M.Sc.)[۱]، رؤیا قدس(M.Sc.)[۱]، امیرحسن زرنانی(Ph.D.)[۲]، مهناز حیدری(M.Sc.)[۳]، علی احمد بیات(B.Sc.)[۴]، ابراهیم ترک‌آبادی(M.Sc.)[۳]، محمدمهدی آخوندی(Ph.D.)[۵]، کاظم پریور(Ph.D.)[۶]، محمود جدی تهرانی(Ph.D.)[۲]، محمدرضا صادقی(Ph.D.)[۲].

۱- مربی، گروه آنتی‌بادی منوکلونال، مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکلونال، پژوهشکده ابن‌سینا جهاددانشگاهی، تهران، ایران.

۲- استادیار، گروه آنتی‌بادی مونوکلونال، مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکلونال، پژوهشکده ابن‌سینا جهاددانشگاهی، تهران، ایران.

۳- مربی، گروه غدد تولید مثل و جنین‌شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی و بیوتکنولوژی تولید مثل و نازایی، پژوهشکده ابن‌سینا جهاددانشگاهی، تهران، ایران.

٤- کارشناس، گروه آنتی‌بادی منوکلونال، مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکلونال، پژوهشکده ابن‌سینا جهاددانشگاهی، تهران، ایران.

٥- استادیار، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی تولید مثل، مرکز تحقیقات بیولوژی و بیوتکنولوژی تولید مثل و نازایی، پژوهشکده ابن‌سینا جهاددانشگاهی، تهران، ایران.

٦- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

مقدمه: با وجود پیشرفت و گسترش تحقیقات در زمینه تولید مثل و ناباروری و به ویژه فرآیند لقاح، در حال حاضر تعداد اندکی از آنتی‌ژن‌های مؤثر در فرآیند لقاح در سطح اسپرم و تخمک، شناسائی شده است. مطالعهٔ این مولکول‌ها و بررسی خصوصیات بیوشیمیایی، بیوفیزیکی و فیزیولوژیکی آنها، درک هرچه بهتر فرآیند لقاح را تسهیل می‌کند. گذشته از آن، علت اصلی درصد بالایی از ناباروری‌های با علت نامشخص که ناشی از وجود نقایص مولکولی آنتی‌ژن‌های دخیل در عمل لقاح می‌باشند، لذا هدف این مطالعه تعیین خصوصیات آنتی‌ژن مورد شناسائی توسط آنتی‌بادی منوکلونال HS56 می‌باشد.

مواد و روشها: سلول‌های هیبریدومای مولد آنتی‌بادی منوکلونال HS56 علیه آنتی‌ژن سطحی اسپرم انسان به صفاق موش‌های نر بالغ ۸-٦ هفته تزریق شدند تا مقادیر زیاد آنتی‌بادی از مایع آسیت، به‌دست آید. آنتی‌بادی مذکور توسط ستون افینیتی کروماتوگرافی پروتئین G، تخلیص و ایزوتیپ این آنتی‌بادی توسط آزمون الایزا تعیین گردید. آنتی‌ژن‌های سطحی اسپرم انسان توسط لیتیوم دی‌یدوسالیسیلات (LIS) استخراج و الکتروفورز SDS-PAGE روی این آنتی‌ژن‌ها انجام گرفت. به منظور تعیین وزن مولکولی و برخی خصوصیات بیوشیمیایی آنتی‌ژن مورد نظر، وسترن بلاتینگ انجام شد و محل قرارگیری این آنتی‌ژن در سطح اسپرم انسان به کمک آزمون ایمنوفلورسانس غیرمستقیم بررسی شده و در نهایت تأثیر یا عدم تأثیر این آنتی‌ژن در واکنش آکروزومی مورد بررسی قرار گرفت. تحلیل داده‌ها بر اساس مقایسه داده‌های زوج شده و آزمون Wilcoxon Signed Ranks Test انجام و سطح معنی‌داری، ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج: با تکنیک SDS-PAGE الگوی الکتروفورتیک آنتی‌ژن‌های استخراج شده با نمک LIS، مشاهده شد و با آزمون الایزا مشخص شد که آنتی‌ژن مورد شناسایی توسط آنتی‌بادی منوکلونال HS56، در مجموعه آنتی‌ژنی استخراج شده از سطح اسپرم با استفاده از LIS، وجود دارد. ایزوتیپ آنتی‌بادی منوکلونال HS56 از نوعIgG1 تعیین شد. پس از انجام وسترن بلاتینگ، مشخص شد که وزن مولکولی آنتی‌ژن مورد نظر حدود ٥٦±۲*kDa* است و در ساختار مولکول پروتئین مورد نظر، باند دی‌سولفیدی وجود دارد. آزمون ایمنوفلورسانس غیرمستقیم نشان داد که محل قرارگیری این آنتی‌ژن در ناحیهٔ آکروزومی و گردن اسپرم می‌باشد. با مجاور نمودن آنتی‌بادی منوکلونال با اسپرم و القاء واکنش آکروزومی، مشخص شد که بلوکه کردن این اپی‌توپ با آنتی‌بادی منوکلونال HS56، تأثیری در واکنش آکروزومی ندارد (P= ۰/۱۱).

نتیجه‌گیری: براساس بررسی‌های انجام شده، هرچند آنتی‌ژن HS56 در ناحیه آکروزومی و سراسپرم قرار دارد ولی نقش اساسی در فرآیند واکنش آکروزومی دارا نمی‌باشد. بررسی بیشتر این آنتی‌ژن بوسیله تخلیص و بررسی ساختار مولکولی آن و نیز نقش آن در اتصال اسپرم و تخمک، ارزش این آنتی‌بادی را مشخص خواهد نمود.

گل واژگان: اسپرم، آنتی‌ژن سطحی اسپرم، آنتی‌بادی‌منوکلونال، واکنش آکروزومی، و باروری.

آدرس مکاتبه: دکتر محمدرضا صادقی، گروه آنتی‌بادی منوکلونال، مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکلونال، پژوهشکده ابن‌سینا، اوین، صندوق پستی: ۱۷۷- ۱۹۸۳۵، تهران، ایران.

پست الکترونیک: sadeghi@avesina.ac.ir

Downloaded from http://www.jri.ir