

Antigén felismerés az adaptív immunrendszerben

A natív antigéneket az immunoglobulinok vagy B sejt receptorok ismerik fel.

A T sejtek kizárólag denaturált (feldolgozott) antigéneket ismernek fel MHC által prezentált formában.

Humán immunoglobulinok

IgG – (MW 150 kD); vérben, nyirokfolyadékban; az Ig-ok 80%-a; placentán keresztül transzportálódik a magzatba; toxinok és vírusok neutralizációja

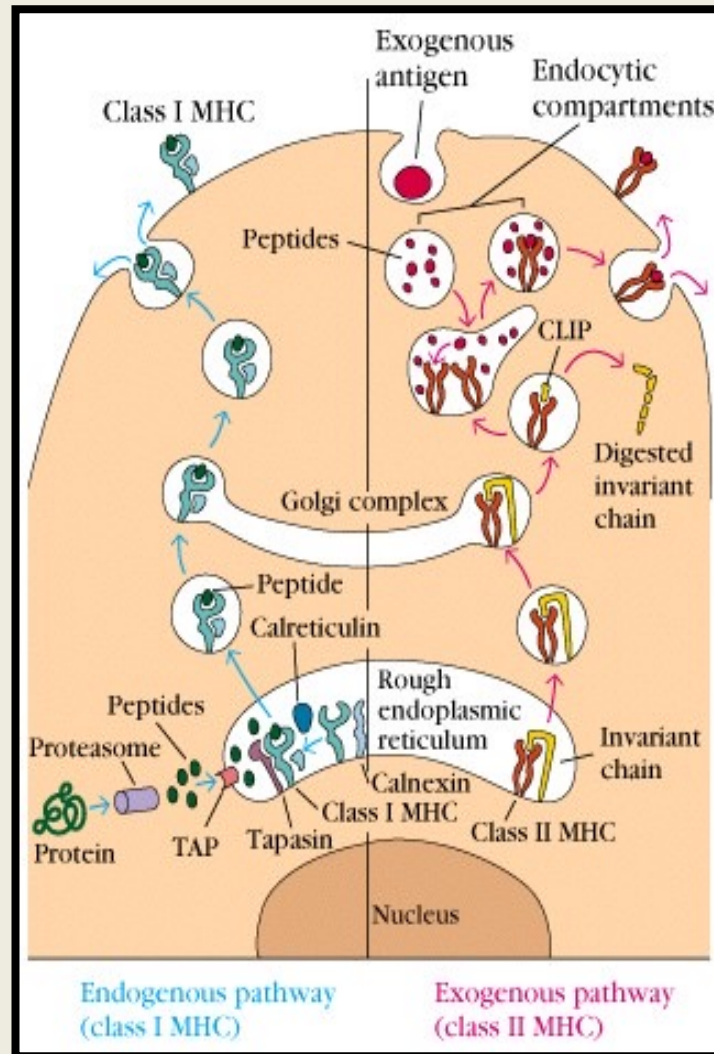
IgM –vérben, nyirokfolyadékban; sejtmembrán kötött forma; pentamer szerkezet (MW 900 kD); fertőzések esetén az első antitestek amelyek termelődnek

IgA –nyálkahártya felszíneken, vérben (dimer vagy tetramer forma) (MW 150-600 kD)

IgD – (MW 150 kD); kizárólag membrán kötött formában a B sejteken, szerepe lehet a B sejtek aktivációjában

IgE – (MW 190 kD); vérben, a periférián hízósejtekhez és bazophil granulocytákhoz kötődik; paraziták elleni védelemben és az allergiás reakciókban vesz részt

Az intracelluláris antigének prezentációja MHC I-el történik a CD8 T sejteknek: folyamatosan minden magvas sejtben és thyrombocytában



Az extracelluláris antigének prezentációja MHC II-vel történik a CD4 T sejteknek: Antigen prezentáló sejtben (APC) fagocitózist követően

A Toxikus Sock Szindróma definíciója (septicemia, vérmérgezés)

A Toxikus sokk szindróma (septicemia/vérmérgezés) bizonyos bakterális és virális fertőzések életveszélyes szövődménye. A toxikus sokk szindrómát gyakran *Staphylococcus aureus* és az *A csoportba tartozó Streptococcus* baktériumok által termelt, vagy virális toxinok (SARS-CoV-2) okozzák. A Toxikus sokk szindróma első leírása a szuperabszorbens tamponok felhasználásával kapcsolatban történt, de a rizikófaktorok közé tartoznak a bőrsérülések és a sebészeti beavatkozások is.

A fiziológias T sejt aktiváció antigén-specifikus és jól szabályozott folyamat, azonban, a toxikus sokk szindrómában tapasztalt T sejt aktiváció nem specifikus és szabályozatlan. A klinikai tüneteket a szabályozatlanul és nagy tömegben termelt citokinek okozzák („citokin-cunami”).



IMMUNOLÓGIAI ÉS
BIOTECHNOLÓGIAI
INTÉZET



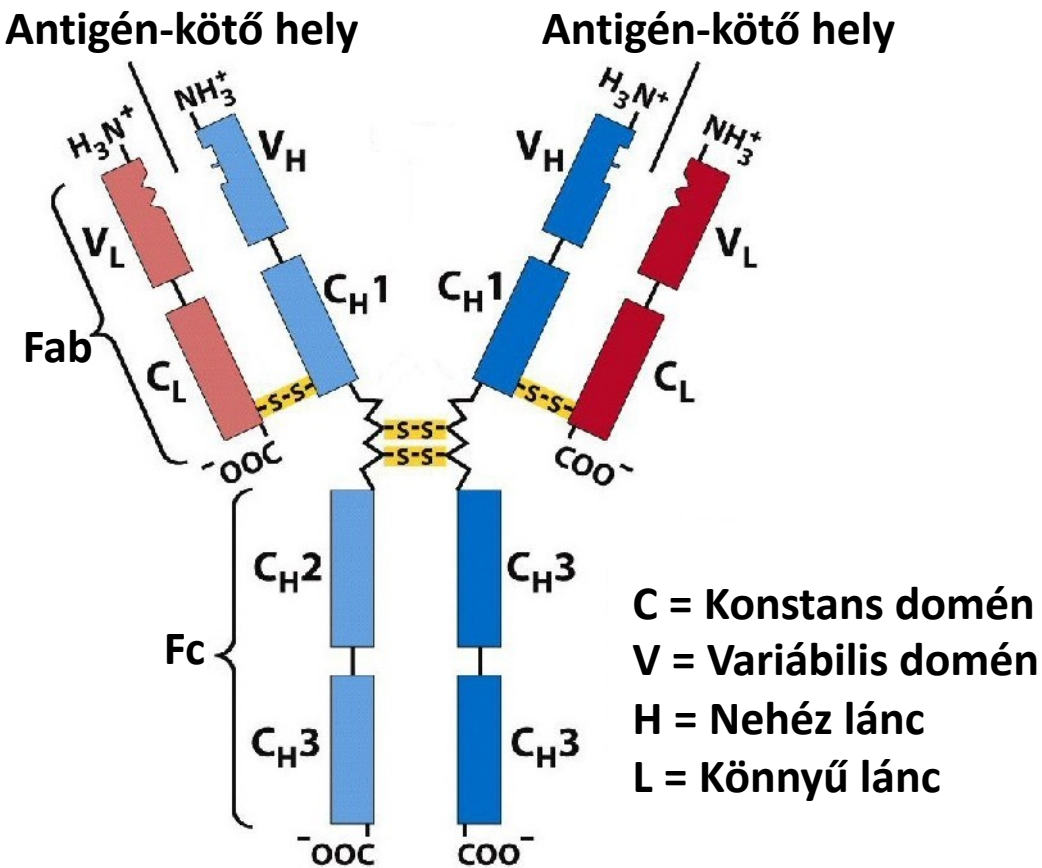
4. gyakorlat: Mono- és poliklonális ellenanyagok, hibridóma-technika, az antitestek gyakorlati felhasználása

Az immunológia alapjai

PTE-KK, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

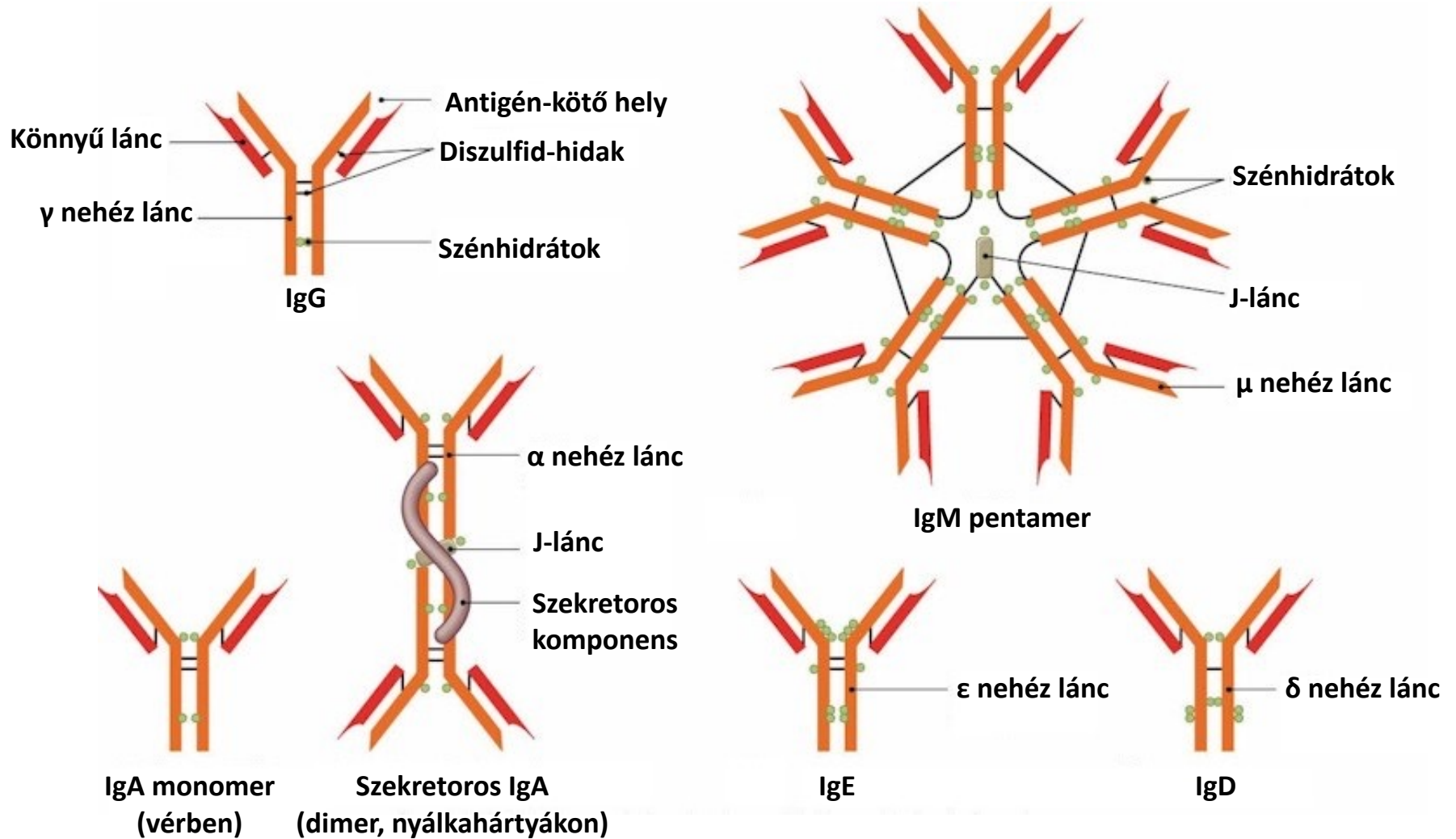
Pécs, 2024.

Az immunglobulinok szerkezete

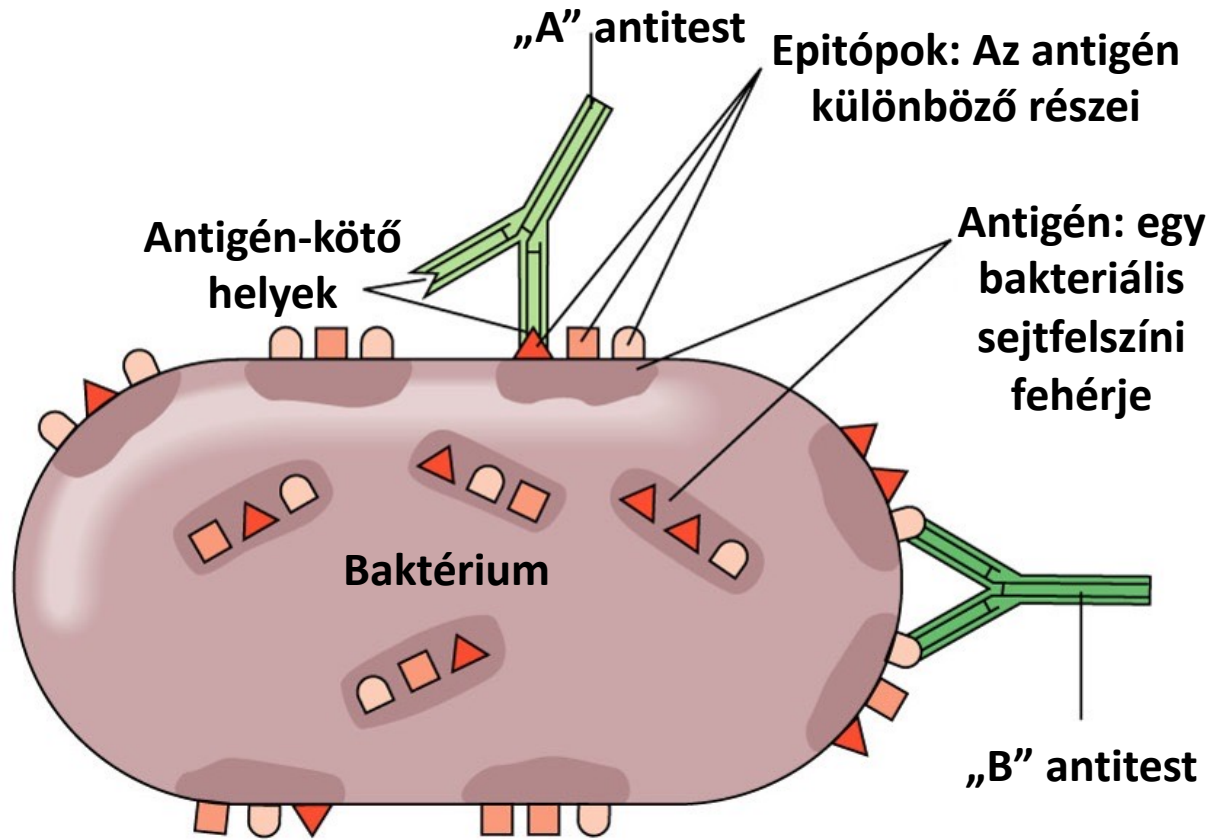


- Immunglobulin = **Plazmasejt** által termelt antigén-felismerő **fehérje**.
- Két könnyű és két nehéz lánc alkotja.
- Könnyű lánc: κ vagy λ
- Nehéz lánc: α , γ , δ , ϵ vagy μ
- **Izotípus:** nehéz lánc típusa alapján: IgA, IgG, IgD, IgE, vagy IgM
- **Idiotípus:** az antigén-kötő helyre utal
- Antigén az antitest vonatkozásában: az a struktúra (pl. egy kórokozó felszíni fehérjéje), amit az antitest felismer.
- **Epitóp** (antigén determináns): Az antigén azon konkrét szakasza, amit az antitest felismer. (kisebb rész az antigénen belül)

Az immunglobulin osztályok

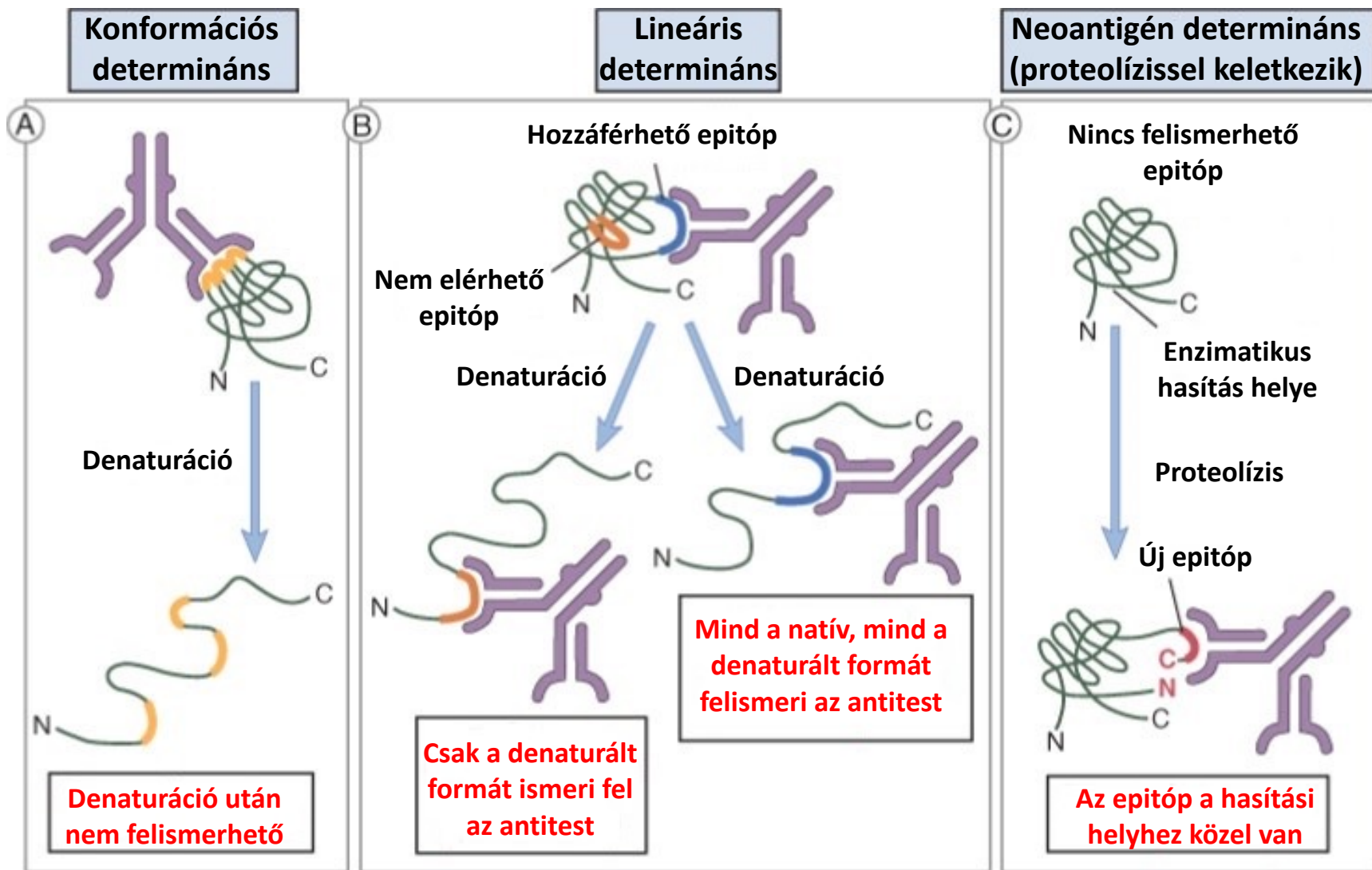


Az antigén és az epitópok közötti különbség

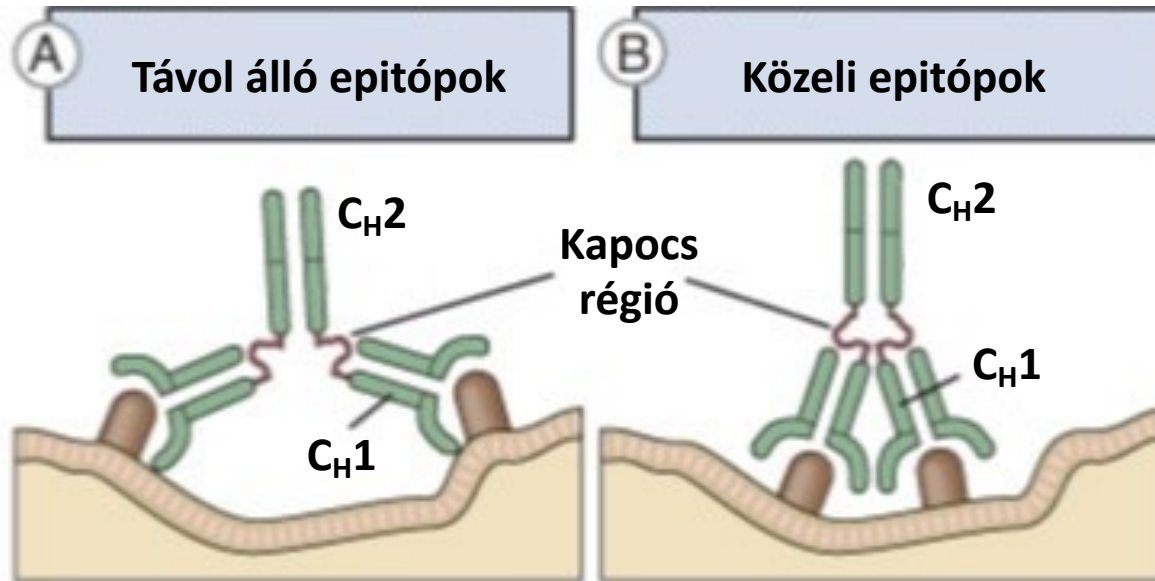


Az antigén az „A” és a „B” antitest vonatkozásában megegyezik (ugyanaz a bakteriális fehérje), de annak eltérő részeit (epitópjait) ismerik fel.

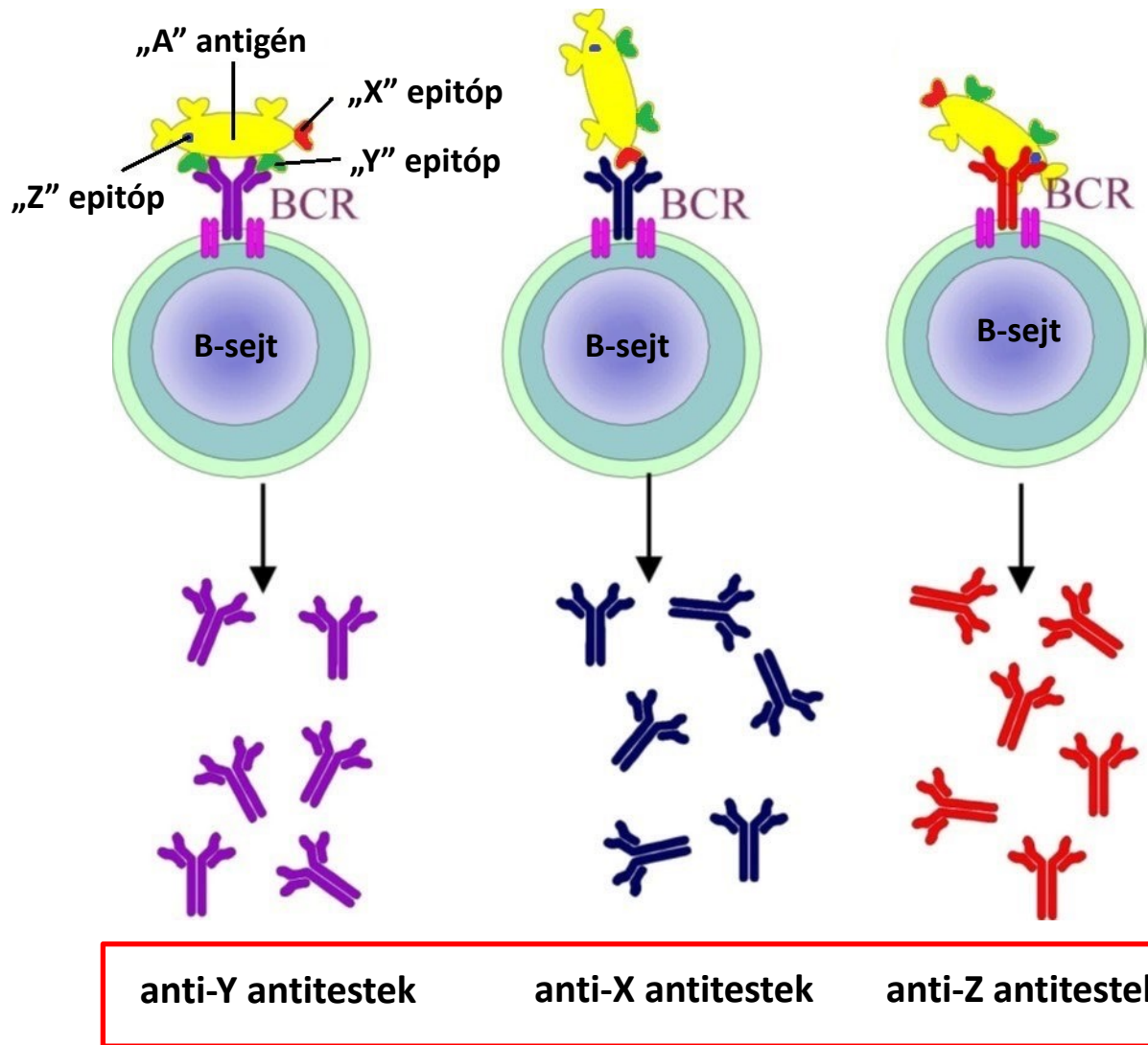
Az epitópok fajtái



A kapocs régió szerepe



Poliklonális antitestek



Az immunválasz során mindig **poliklonális aktiváció** történik és poliklonális antitest termelődik!

POLIKLONÁLIS anti-A antitest

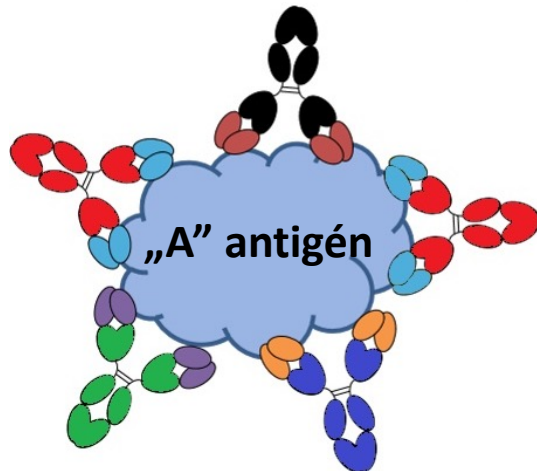
anti-Y antitestek anti-X antitestek anti-Z antitestek

Mono- és poliklonális antitestek összehasonlítása



„You wanna play a little game?”

Poliklonális anti-„A” antitest



Poliklonális:

- **Különböző B-sejt klónok** termékei
- Egy adott antigén **eltérő epitópjait** ismerik fel
- A specificitásuk és affinitásuk **különböző**
- (Több monoklonális ellenanyag keverékeként fogható fel)

Monoklonális anti-„A” antitest

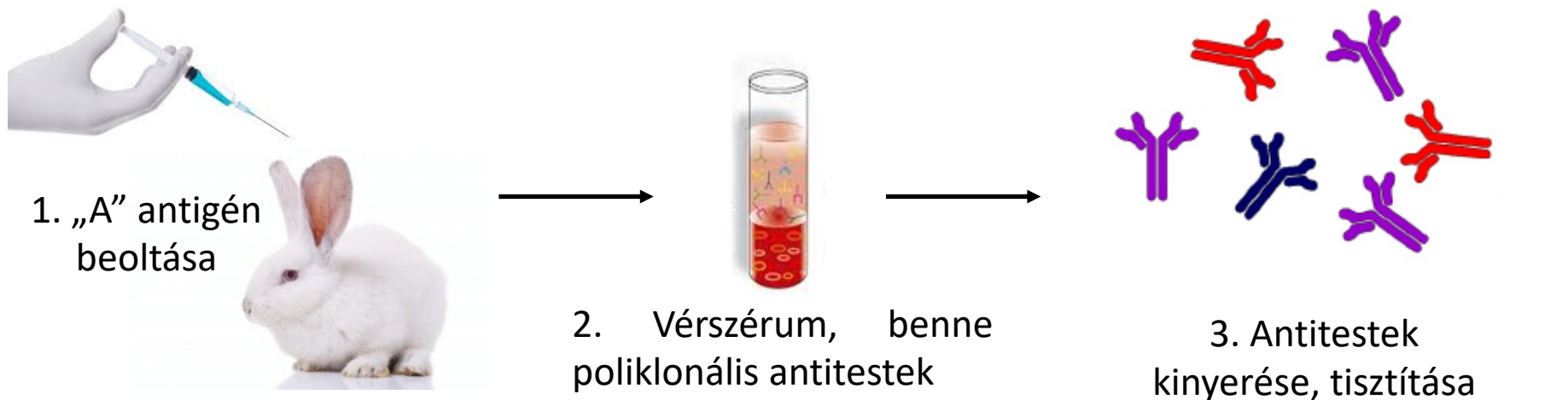


Monoklonális:

- **Egyetlen B-sejt klón** terméke
- Egy adott antigén **meghatározott epitópját** ismeri fel
- A specificitás és affinitás **állandó**

Immunizálás

- Immunizálás: Élő szervezet beoltása egy számára **idegen antigénnel** azzal a céllal, hogy az antigénnel szembeni immunválaszt és **antitest termelést** váltsunk ki.
- Fertőzések megelőzése céljából végzett immunizálás = Védőoltás (lásd később)
- Poliklonális antitestek előállítása:
 - Állat immunizálása az antigénnel
 - Az immunválasz létrejöttét követően az állat **vérserumából** kinyerhető az **antigén ellen termelt poliklonális antitest**^[1.]
- Probléma: monoklonális antitestek a vérserumból nem nyerhetők
- Megoldás: hibridóma-technika (lásd később)



Beoltás

- A megfelelő állatok kiválasztása fontos, a főbb szempontok:^[2.]
 - Mennyi antitestre van szükség?
 - Milyen könnyen lehet az állattól szérumot nyerni?
 - Mennyire fajidegen az adott állatban a beoltandó antigén?
 - Mire akarjuk felhasználni a termelt antitestet?
- Poliklonális antitest termeléshez általában nyulat, kecskét, birkát vagy csirkét használnak, monoklonális antitest előállításához pedig egeret vagy patkányt. (lásd később)
- A beoltandó antigén tulajdonságai is sokat számítanak:
 - Tisztaság: szennyeződés esetén a szennyező anyag ellen is termelődhetnek antitestek
 - Milyen formában juttatjuk be az antigént: egész sejteket adunk be, natív, vagy módosított fehérjét, kötjük-e valamilyen hordozóhoz (pl. haptén)
- A beadás módja: orális (per os), intrakután (ic.), szubkután (sc.) vagy intramuszkuláris (im.)

Immunizálásához használt állatok

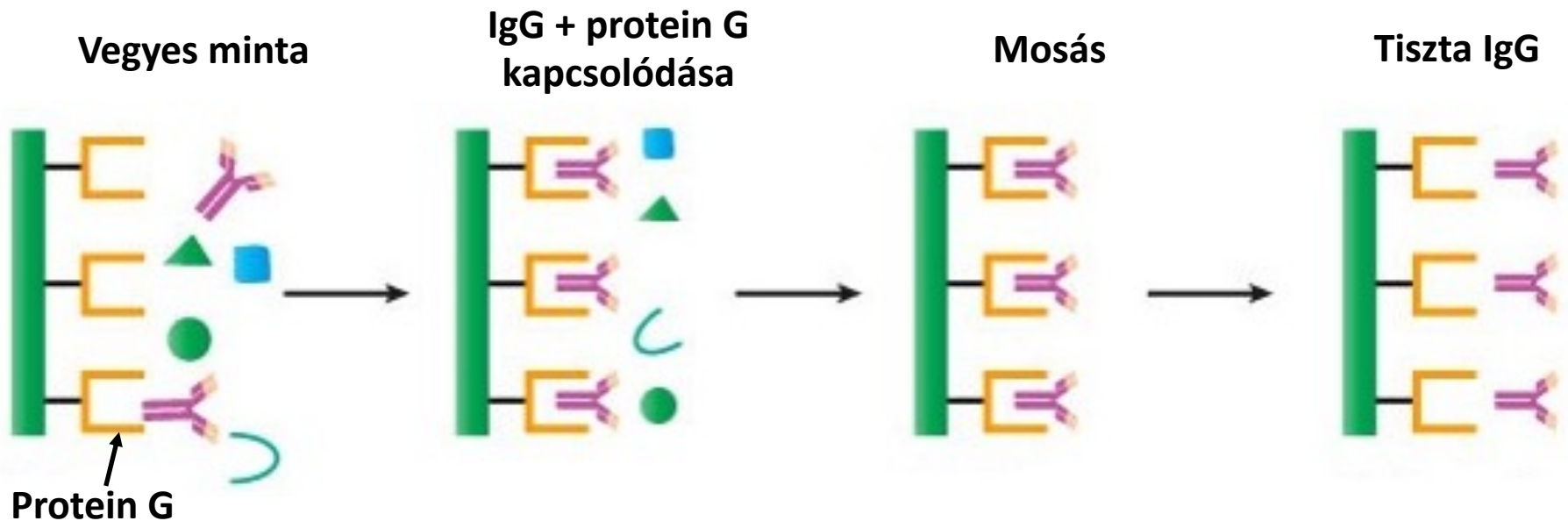


Adjuvánsok

- Olyan anyagok, amik elnyújtják és összességében **erősítik** a beadott antigénnel szembeni **immunválaszt**, ezáltal erőteljesebb antitest termelés érhető el. Adjuvánsokat használnak az emberi védőoltásoknál is. (lásd később)^[3,4.]
- Lehetséges hatásmechanizmusuk:
 - Növelik az antigén-felvételét
 - PRR-okon keresztül aktiválják a veleszületett immunrendszer sejtjeit, pl. a macrophagokat
 - Fokozzák az MHC II-n keresztüli antigén-bemutatást
- Néhány példa adjuvánsokra:
 - **Alumínium-sók** (pl. alumínium-foszfát, alumínium-oxid-hidroxid, ezek a humán oltásokban is a leggyakoribb adjuvánsok)
 - Lipid A analógok (pl. Cervarix[©] = HPV oltás)
 - **Freund adjuváns**: az antigén ásványi olajjal képez emulziót
 - Komplet (CFA): elölt *Mycobacterium tuberculosis* baktériumokat tartalmaz^[5.]
 - Inkomplet (IFA): nincs benne *Mycobacterium*
 - Vírus fehérjéket tartalmazó **liposzómák**^[6.]

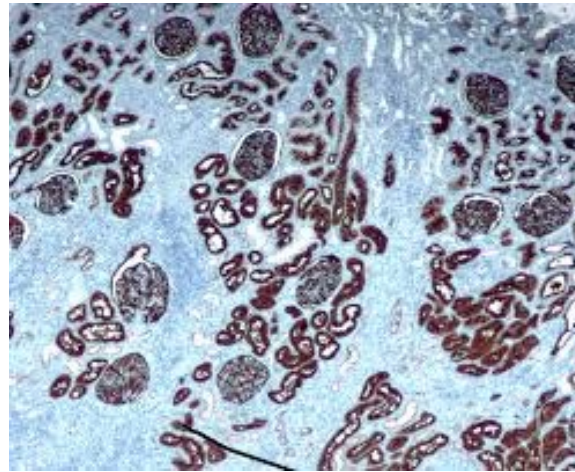
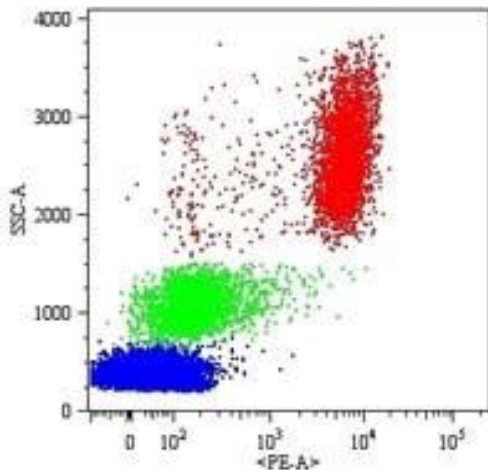
Az antitestek tisztítása

- Az antitesteket az állatok **vérserumából** nyerik ki.
- A különböző izoformák tisztítására eltérő módszerek ideálisak.
- IgG^[7.]
 - Precipitáció (pl. ammónium-szulfáttal)
 - **Kromatográfiás** módszerek, leginkább affinitás-kromatográfia **protein A** (*Staphylococcus*) vagy **protein G** (*Streptococcus*) segítségével vagy ioncserélő-kromatográfia



A kinyert antitestek tesztelése

- A kinyert antitest **titerét** (=mennyiségét) és **specificitását** ellenőrizni kell az **antigén** segítségével **ugyanabban a rendszerben**, amiben majd a felhasználás is történni fog. Példák (részletesen később lesz szó róluk):
 - Áramlási citometria
 - ELISA
 - Immunhisztokémia



Áramlási citometriás dot-plot Immunhisztokémiai metszet
(CD10 kimutatása normális vesében)

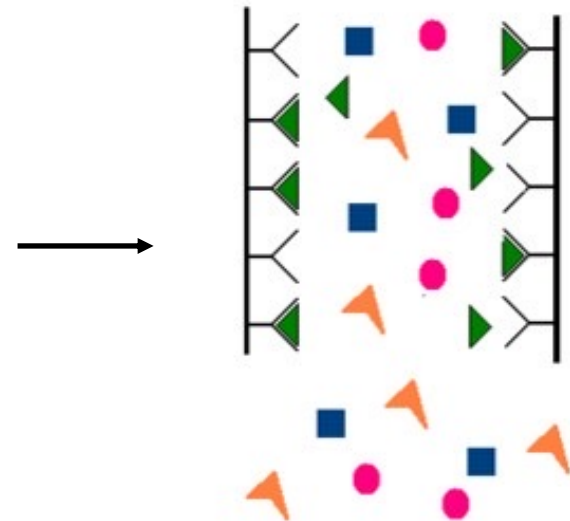
ELISA lemez

Monoklonális antitestek jelentősége

- A **poliklonális** antitestek **változó affinitással** és **specifitással** rendelkeznek, ami limitálja a felhasználásukat. (pl. keresztreaktivitás, minden egyes immunizált állatból eltérő specificitású és affinitású antitest keverék nyerhető)
- A fentiek miatt nagy igény volt a **monoklonális** antitestek előállítására, amik **egyetlen jól meghatározott epitópot** ismernek fel és **állandó affinitással** képesek azt megkötni.

MONOKLONÁLIS ANTITESTEK FELHASZNÁLÁSA

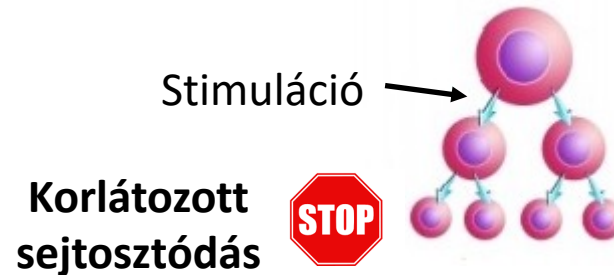
- Preparatív módszerek:
 - **Fehérjék specifikus tisztítása** (pl. immunoaffinitás-kromatográfia)
- **Analitikai módszerek** (diagnosztika, kutatás):
 - **Szerológiai tesztek** (lásd később)
 - Egyes **sejtcsoportok specifikus elkülönítése** (pl. CD-markerek kimutatása)
- **Terápiás felhasználás:**
 - Célmolekulák/sejtek specifikus gátlása vagy serkentése (lásd később)



A kevert fehérjemintából a tisztítandó fehérjék **kikötődnek az oszlophoz**, majd tisztán kinyerhetők.

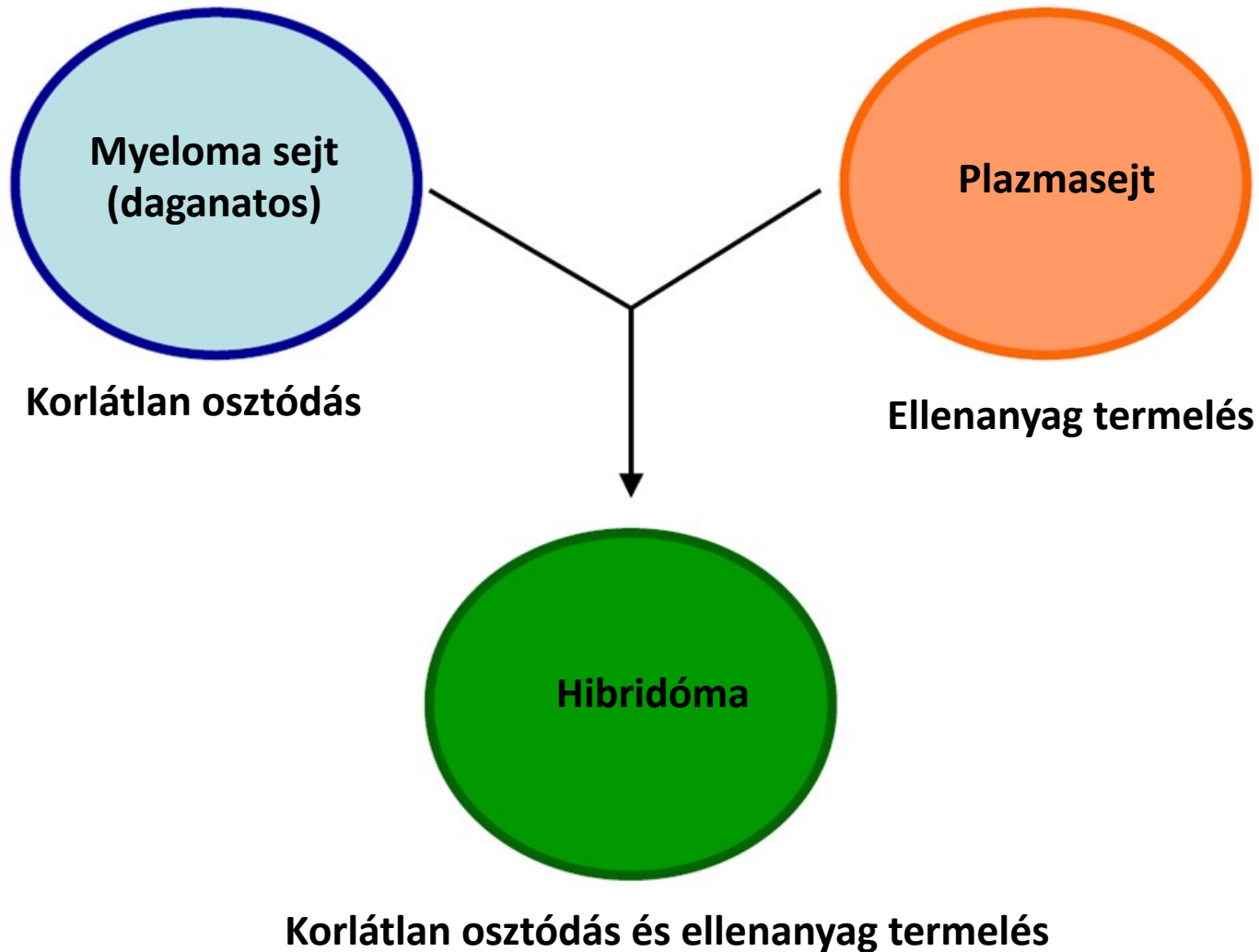
Monoklonális ellenanyagok előállítása

- Mi a probléma?
 - Egyetlen B-sejt klónjai által termelt antitestet kellene nagy mennyiségben előállítani. → Ennek felszaporítása nem lehetséges, mert a B-sejtek **idővel elpusztulnak**, nem oszódhatnak korlátlanul.

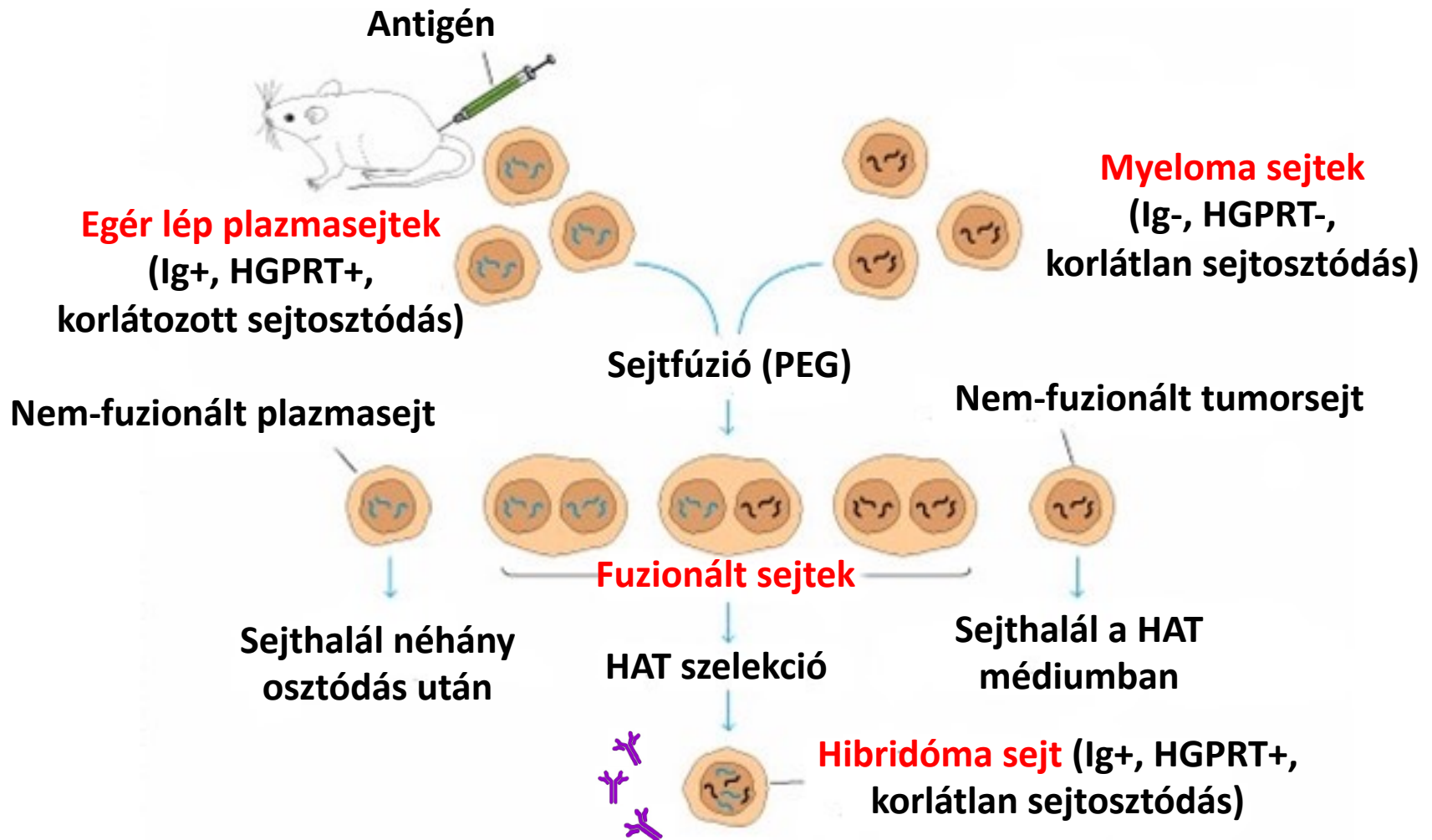


- Megoldás: A **sejtek immortalizálása**
 - Hogyan? → Fuzionáltatják (egyesítik) őket tumorsejtekkel
 - Miért? → A daganatsejtek korlátlan osztódási potenciállal rendelkeznek
- Eredmény: **Hibridóma-technika**^[8,9.]
 - **Daganatsejt** és antitest-termelő **plazmasejt** mesterséges, in vitro **fúziója**
 - A keletkező **hibrid** (=keverék) sejtek egyesítik a két sejtípus számunka előnyös tulajdonságait, végtelen ideig fenntarthatók, szaporíthatók és az eredeti B-sejt klónra jellemző antitestet termelik.

A lényeg:



Hibridóma-technika 1.



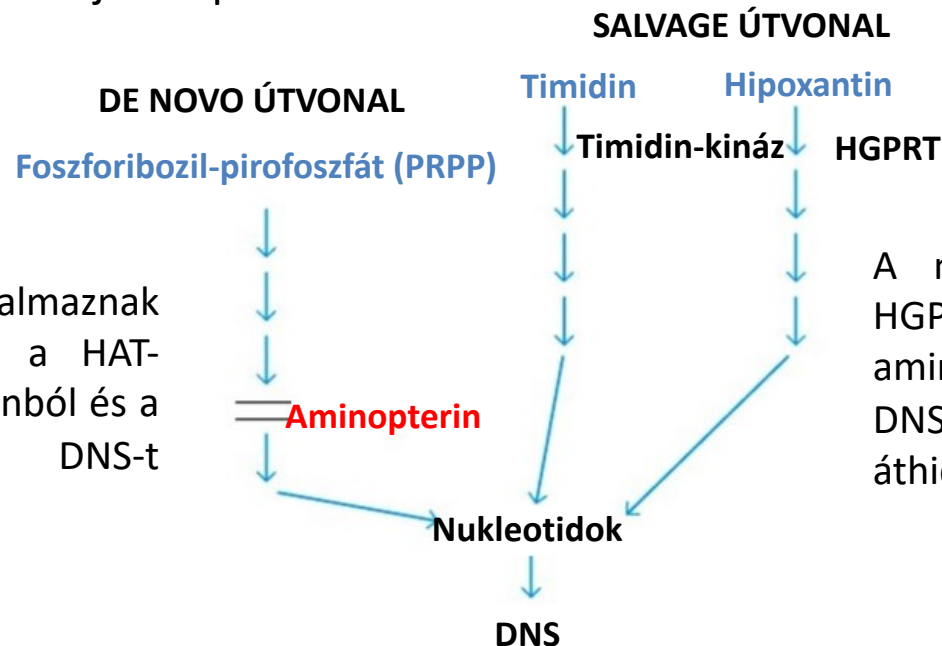
HGPRT: Hipoxantin-guanin-foszforibozil-transzferáz (lásd következő dia)

PEG: Polietilén-glikol

HAT: Hipoxantin-aminopterin-timidin sejtmedium (lásd következő dia)

Hibridóma-technika 2.

1. Állat **immunizálása** (általában egér vagy patkány)
2. Az állat lépének eltávolítása, **plazmasejtek izolálása**
3. **Sejtfúzió**: egér plazmasejt + **nem-szekreteros** myeloma sejtek (plazmasejtes daganat, pl. egér Sp2 sejtek) fúziója: **Polietilén-glikol (PEG)** vagy **elektromos áram** segítségével (elektrofúzió)
4. **Szelekció**: **HAT-médium** (hipoxantin, aminopterin és timidin tartalmú) segítségével kisselektálják a plazmasejt-myeloma hibrideket, a nem-fuzionált vagy egymással fuzionált tumorsejtek elpusztulnak.

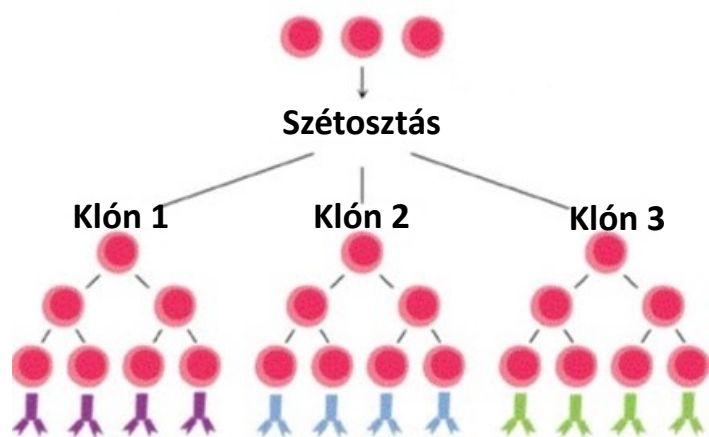


A hibrid sejtek tartalmaznak HGPRT-t és TK-t, így a HAT-médiumban a hipoxantinból és a timidinből képesek DNS-t szintetizálni.

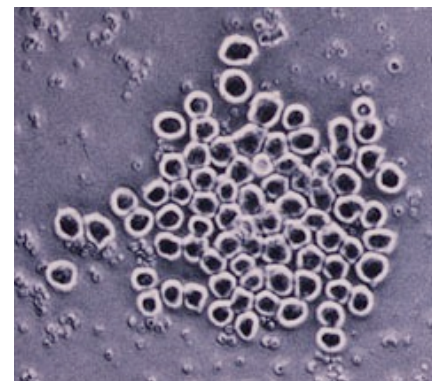
A myeloma sejtekben nincs HGPRT és TK, így az aminopterin okozta blokkot a DNS-szintézisben nem tudják áthidalni, ezért elpusztulnak.

Hibridóma-technika 3.

- **Monoklónok létrehozása:** A HAT-szelekcióval kapott hibridsejteket **szétosztják** 96 lyukú lemezen, úgy, hogy minden lyukba lehetőleg **egyetlen sejt** kerüljön, majd külön-külön felszaporítják őket, így minden lyukban egyetlen plazmasejtre jellemző antitest-termelő klónok jönnek létre. → Monoklonális antitest termelés
- Termelt antitestek **tesztelése** a vizsgált antigénre ELISA-val
- Az ideális antitestet termelő klón felszaporítása



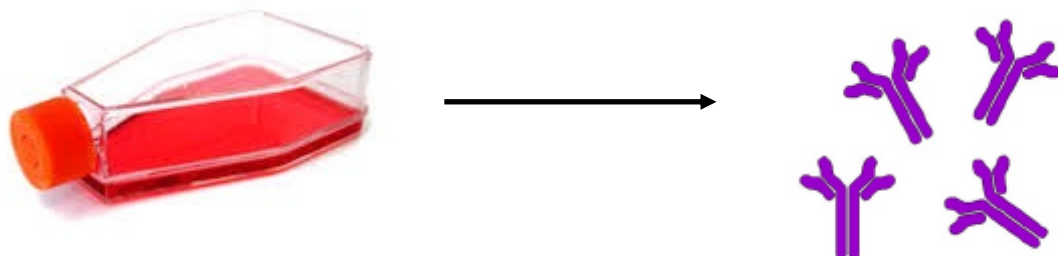
96 lyukú lemez



Hibridóma sejtek
sejtenyésztő médiumban

Folyamatos antitest termelés

- A kapott hibridómák a sejttenyésztő médiumba szekretálják (=termelik és kiválasztják) az ellenanyagot. → In vitro, a **felülúszóból** kinyerhető.

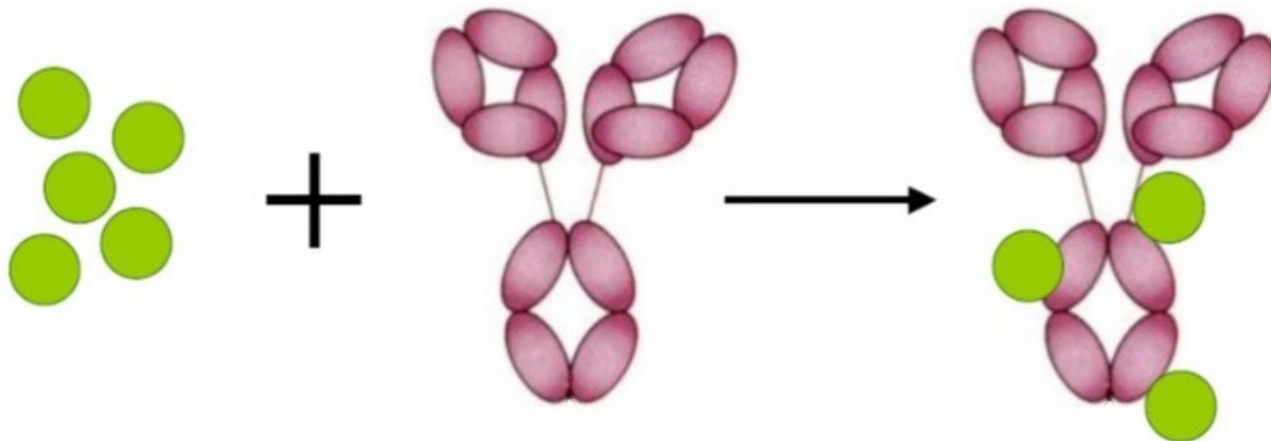


- Ipari (tömeges) előállítás: **fermentorok** segítségével.



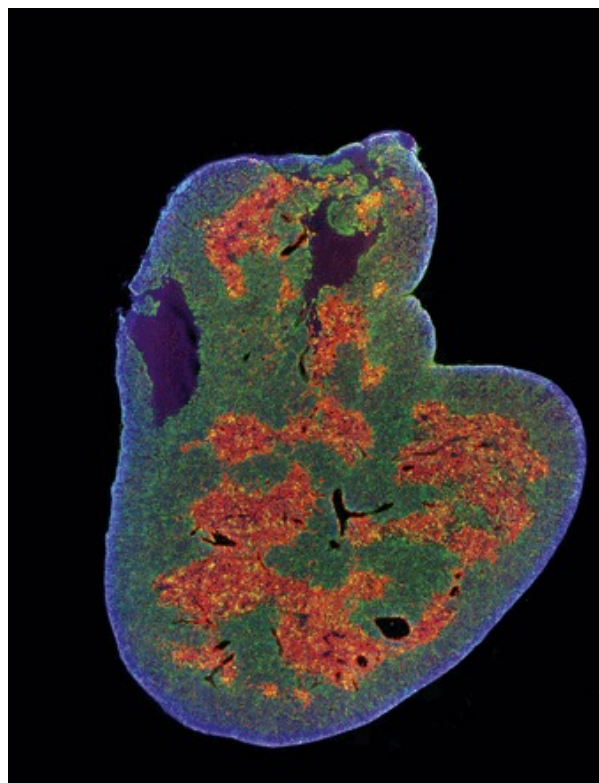
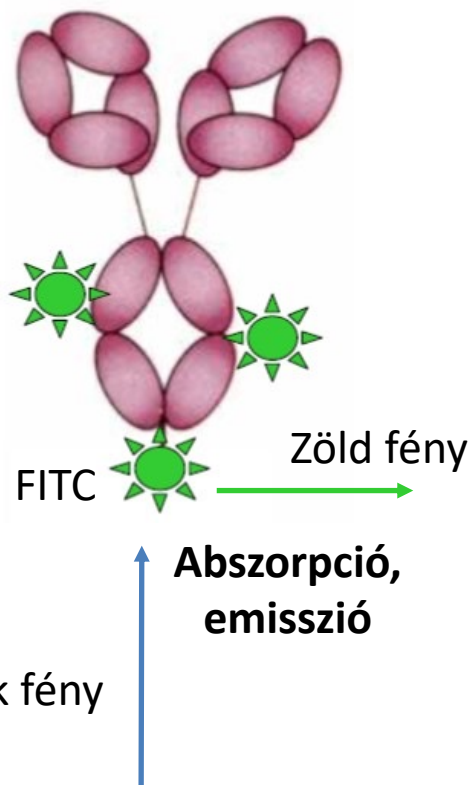
Antitestek jelölése

- Az antitest-antigén reakció **színtelen**, nem látható. Ha jelölőmolekulákat konjugálunk az antitestekhez, akkor viszont már detektálhatjuk.
- Konjugátumok:
 - **Fluoreszcens anyagok** (fluorofór vagy fluorokróm, ugyanazt jelenti), pl. FITC, PE, stb. (lásd később) → **áramlási citometria, fluoreszcens mikroszkópia**
 - **Enzimek** (kromogénnel és szubsztráttal színreakciót adnak), pl. HRP, ALP (lásd később) → **immunhisztokémia, ELISA, Western blot**
 - **Radioaktív izotópok:**
 - Diagnosztika → γ -sugárzó izotópok



Fluoreszcens konjugátumok

Fluoreszcens mikroszkópia



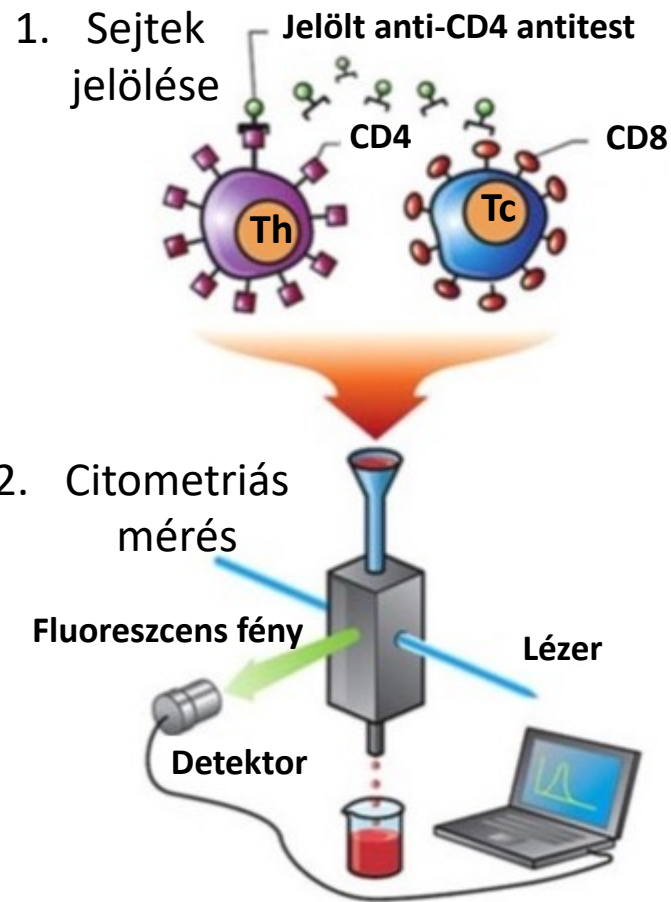
Egér thymus IF^[10.]:

Vörös: Medullaris epithel

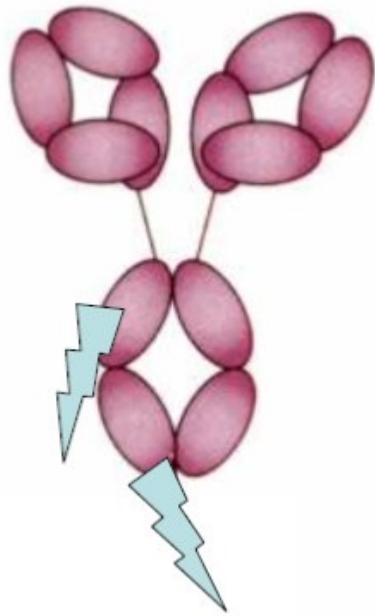
Zöld: Corticalis epithel

Kék (DAPI): Sejtmagok

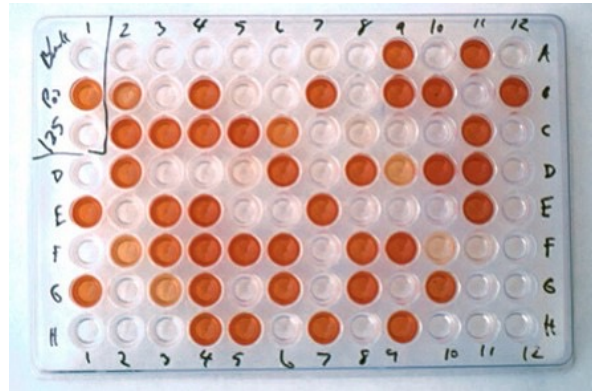
Áramlási citometria



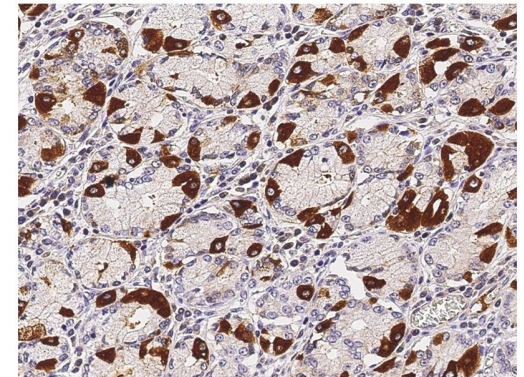
Enzim konjugátumok



ELISA



Immunhisztokémia



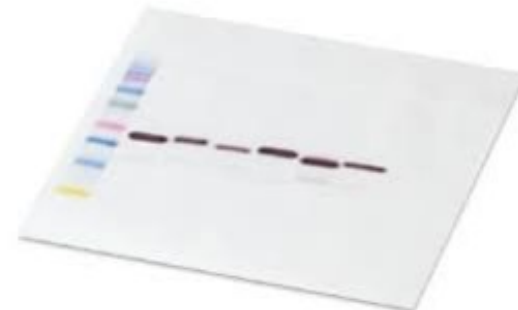
(intrinsic factor jelölése
humán gyomorban)

Enzim az antitesten + Kromogén
és szubsztrát



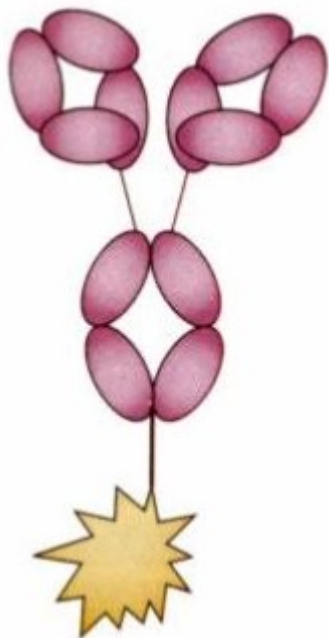
Színreakció

Western blot



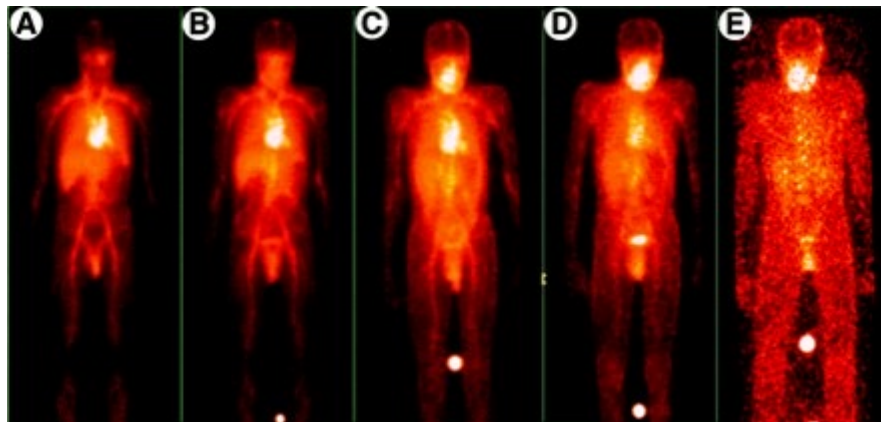
Gyakran használt enzimek: **HRP** (torma peroxidáz), **ALP** (alkalikus foszfatáz)

Radioaktív konjugátumok



Antitest + sugárzó izotóp

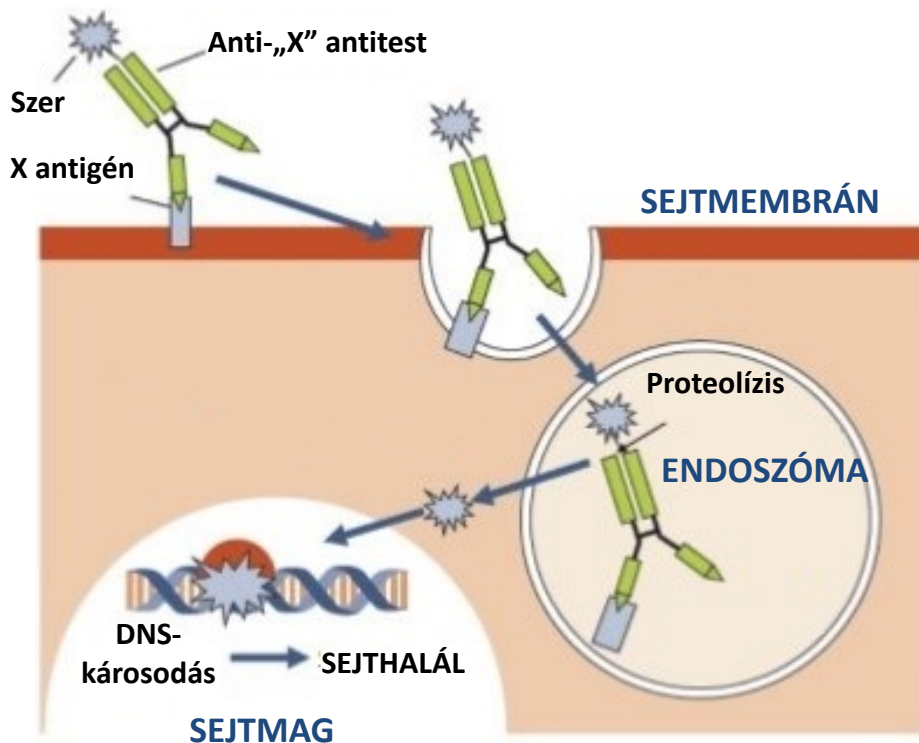
- **Diagnosztikus célra** (radioimmun-képképzés):^[11.]
 - γ -részecskét vagy pozitront sugárzó izotópot konjugálnak az antitestre
 - Az antitest szelektíven kötődik a célsejthez (pl. daganatsejt)
 - Gamma-kamerával vagy PET-tel (Pozitronemissziós tomográfia) detektálható a testből érkező jel (pl. mikrometasztázisok)
- **Terápiás célra:**
 - α - vagy β -sugárzó izotópokat használnak \rightarrow lokálisan, nagy dózisban éri a tumort a besugárzás



Oropharyngeális tumort kimutató immuno-PET vizsgálat, 1 (A), 24 (B), 72 (C), 144 (D) és 312 (E) órával a jelölt antitest beadását követően.^[12.]

ADC (Antibody-drug conjugate)

- Az antitest **szelektíven** eljuttatja a gyógyszert a célsejthez, amit a sejt az antitesttel együtt felvesz a citoplazmájába, ahol a gyógyszer majd kifejtheti hatását. **Daganatok ellen** használt terápiás megközelítés, leginkább kemoterápiás szereket kapcsolnak az antitestekhez.^[13.]



Néhány példa gyógyszer-konjugált terápiás antitestre

Gyógyszer	Célmolekula	Betegség
Brentuximab vedotin	CD30	Hodgkin-limfóma
Gemtuzumab ozogamicin*	CD33	Akut mieloid leukémia
Trastuzumab emtansine	HER2	Emlőrák

*2010-ben a Pfizer® visszavonta a piacról^[14.]

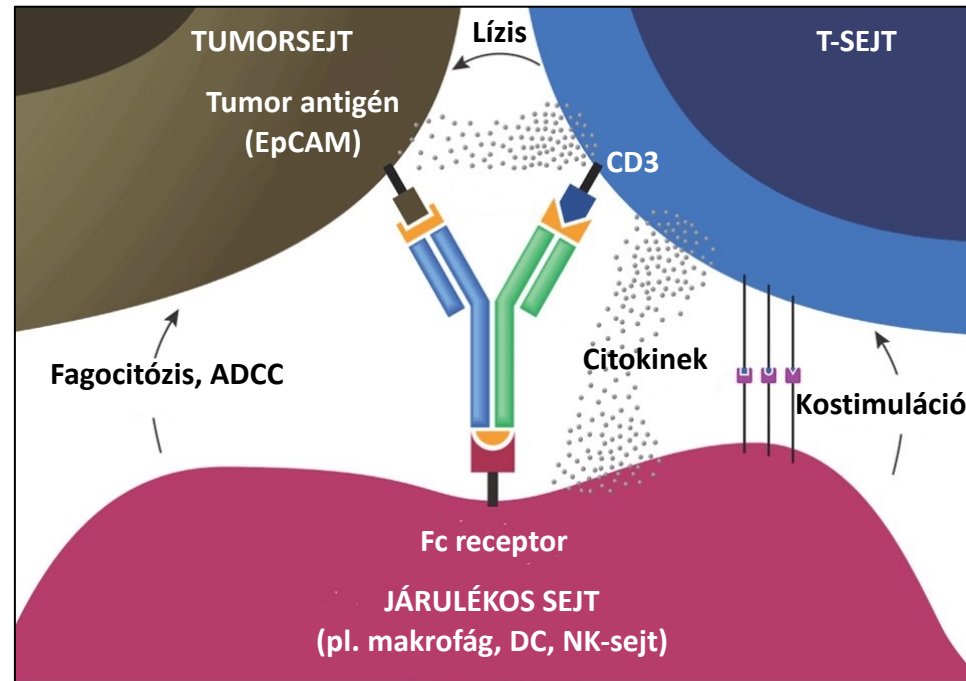
A daganatellenes ADC-k általános hatásmechanizmusa

Egyéb módosítások

- **Bispecifikus antitestek:**^[15.]
 - Rekombináns immunglobulinok, melyek antigén-kötő helyei különböző antigéneket ismernek fel.
 - Felhasználásuk: Az immunsejtek és a daganatsejtek összekötésével elsősorban **tumorok ellen** használatosak.

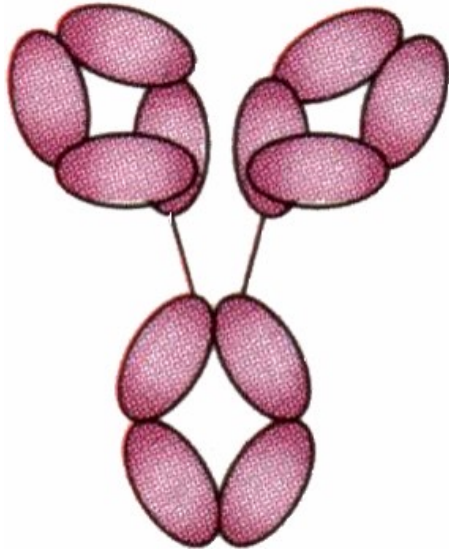
- **Fúziós fehérjék:**^[17.]
 - Általában immunglobulin Fc részhez kötött rekombináns humán fehérjék. Pár példa (részletesen lásd később):

- Abatacept (CTLA-4 + IgG1)
 - Etanercept (TNF α R + IgG1)
 - Romiplostim (TPO + IgG1)
- Rheumatoid arthritis (RA)
- Immun thrombocytopenia (ITP)



Egy bispecifikus antitest (catumaxomab) hatásmechanizmusa^[16.]

Rágcsáló antitestek



- Az első terápiás monoklonális antitest (muromonab) egy teljes egészében egér immunoglobulin volt.
- Transzplantációt követően adták a szervkilöködések megelőzésére. (lásd később)
- Fő hátrány: Ez egy **fajidegen fehérje** az emberi szervezet számára!



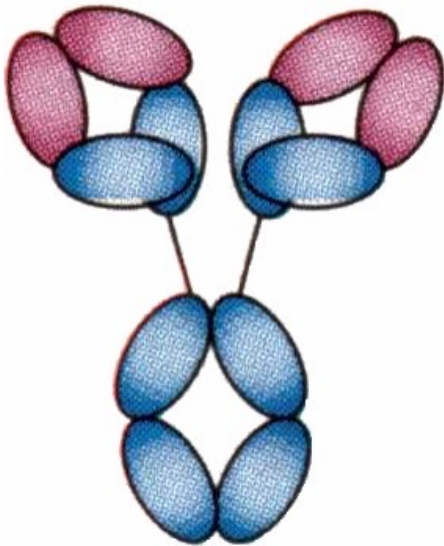
A betegekben ellenanyag termelést váltott ki és néhányukban anaphylaxiás reakciót (lásd később) is előidézett:^[18.]

HAMA (human anti-mouse antibody): humán anti-egér antitest

Bár az ellenanyagok konstans része konzerváltnak tekinthető, az egyes fajok között nem azonos.

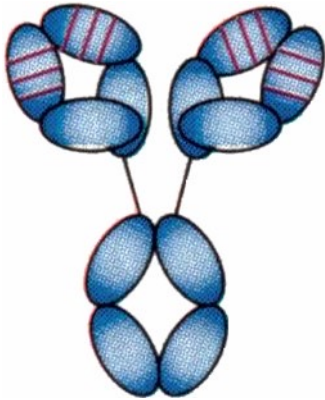
A muromonab az egyedüli terápiás rágcsáló monoklonális antitest. Akut esetben, más szerre nem reagáló kilöködésénél még használják, de megelőző célzattal már nem adják a transzplantált betegeknek.^[19.]

Kiméra antitestek



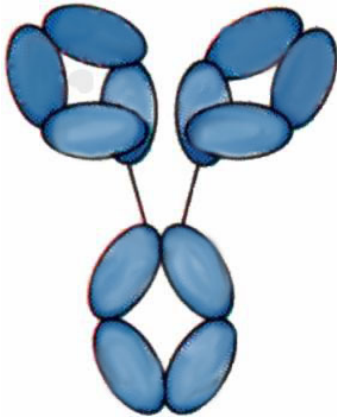
- A kiválasztott rágcsáló monoklonális antitest variábilis (Fv) régióját kódoló géneket hozzákapcsolják egy humán antitest Fc részét kódoló génjeihez.
- A keletkező antitest **megőrzi** az eredeti egér immunglobulin **specifitását**, de a konstans lánc már humán eredetű.
- Durván 75 százalékban humán.
- Előny a rágcsáló antitestekhez képest: **Kisebb az esélye**, hogy **idegenként** felismerje a beteg immunrendszere és a humán Fc az **effektor funkciókat** is hatékonyabban ellátja az emberi szervezetben, illetve növeli a molekula **életidejét**.
- Hátrány: A betegek egy részében ez is ellenanyag termelést vált ki^[20.] → **(HACA): humán anti-kiméra antitest**
- Kiméra antitesteket széleskörűen használnak különböző betegségek kezelésére. (lásd a táblázatban a diasor végén)

Humanizált és humán antitestek



HUMANIZÁLT:

- Az eredeti rágcsáló antitestből kizárólag a hipervariábilis régiókat (CDR) hagyják meg, a többi szekvencia már humán.
- A humanizált ellenanyag > 90 százaléka humán.
- A specificitása hasonló az eredeti rágcsáló antitestéhez, effektor funkciója és féléletideje pedig csaknem azonos az emberi immunglobulinokéval.



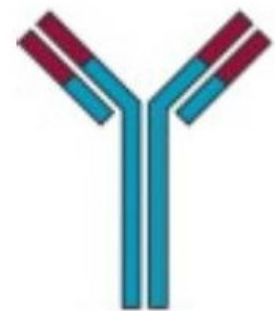
HUMÁN:

- A humán immunglobulinok génjeit beviszik egérbe, majd az ilyen transzgenikus egeret immunizálják és a plazmasejtjeiből hibridómát hoznak létre.^[21.]



Teljes egészében humán ellenanyag

Nevezéktan



Infliximab
Rituximab
Abciximab



Adalimumab
Ipilimumab



Muromonab



Daclizumab
Trastuzumab

mab = monoklonális antitest

xi = kiméra antitest

zu = humanizált antitest

mu = teljesen humán antitest

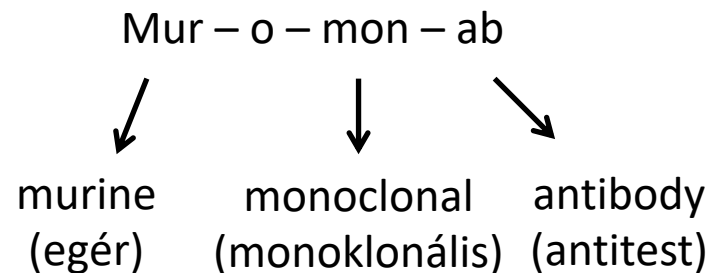
li = immunmoduláns hatás

tu = daganatellenes hatás

ci = kardiovaszkuláris betegségben használható antitest

A WHO **egységes nevezéktant** vezetett be a monoklonális antitestekhez.^[22.]

A muromonab kivételes, mivel az első terápiás monoklonális antitest:



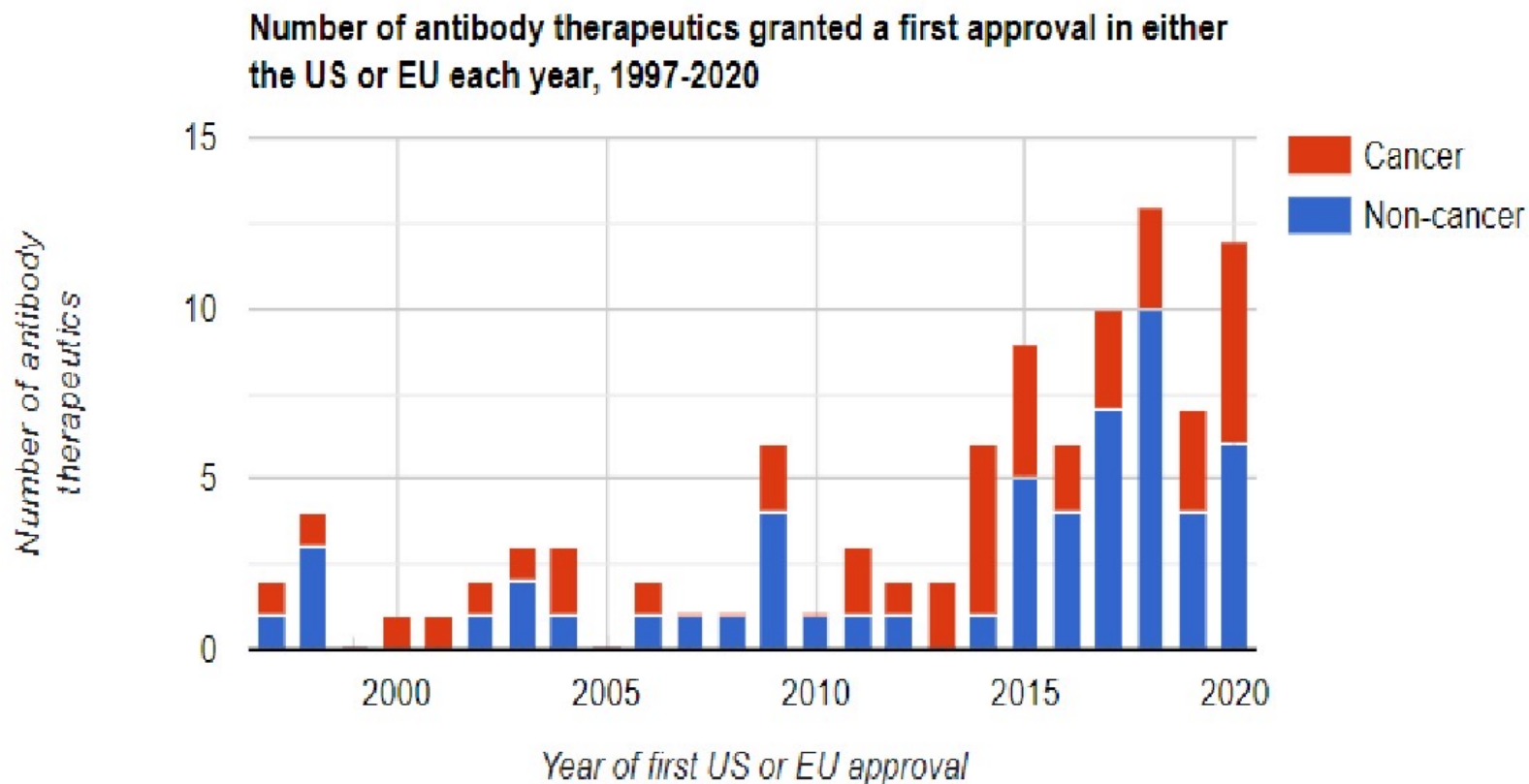
Néhány FDA által bejegyzett antitest 1.

Bejegyzés éve	Hatóanyag név	Típusa	Gyári név	Célmolekula	Alkalmazás
1986	muromonab	egér	Orthoclone-OKT-3	CD3	Transzplantáció rejekeció
1994	abciximab	kiméra	ReoPro	Gp IIb/IIIa	PCI
1997	daclizumab	humanizált	Zenapax	CD25	Transzplantáció rejekeció
1997	rituximab	kiméra	Rituxan, Mabthera	CD20	B-sejtes NHL
1998	infliximab	kiméra	Remicade	TNF α	RA, Crohn-betegség, Psoriasis
1998	trastuzumab	humanizált	Herceptin	HER2	Emlőrák
1998	basiliximab	kiméra	Simulect	CD25	Transzplantáció rejekeció
2001	alemtuzumab	humanizált	Campath	CD52	CLL
2002	adalimumab	humán	Humira	TNF α	RA
2004	bevacizumab	humanizált	Avastin	VEGF-A	Vastagbélrák

Néhány FDA által bejegyzett antitest 2.

Bejegyzés éve	Hatóanyag név	Típusa	Gyári név	Célmolekula	Alkalmazás
2004	cetuximab	kiméra	Erbix	EGF-R	Vastagbélrák, fej-nyak tumor
2006	natalizumab	humanizált	Tysabri	α 4 integrin	SM, Crohn-betegség
2006	panitumumab	humán	Vectibix	EGF-R	Vastagbélrák
2006	ranibizumab	humanizált	Lucentis	VEGF-A	Macula degeneráció
2009	golimumab	humán	Simponi	TNF α	RA
2010	denosumab	humán	Amgen	RANK-L	Csontritkulás
2010	tocilizumab	humanizált	Actemra	IL-6 R	RA
2011	ipilimumab	humán	Yervoy	CTLA-4	Melanoma malignum
2014	nivolumab	humán	Opdivo	PD-1	Melanoma malignum, nem-kissejtes tüdőrák
2015	secukinumab	humán	Cosentyx	IL-17A	Psoriasis

FDA által bejegyzett antitestek

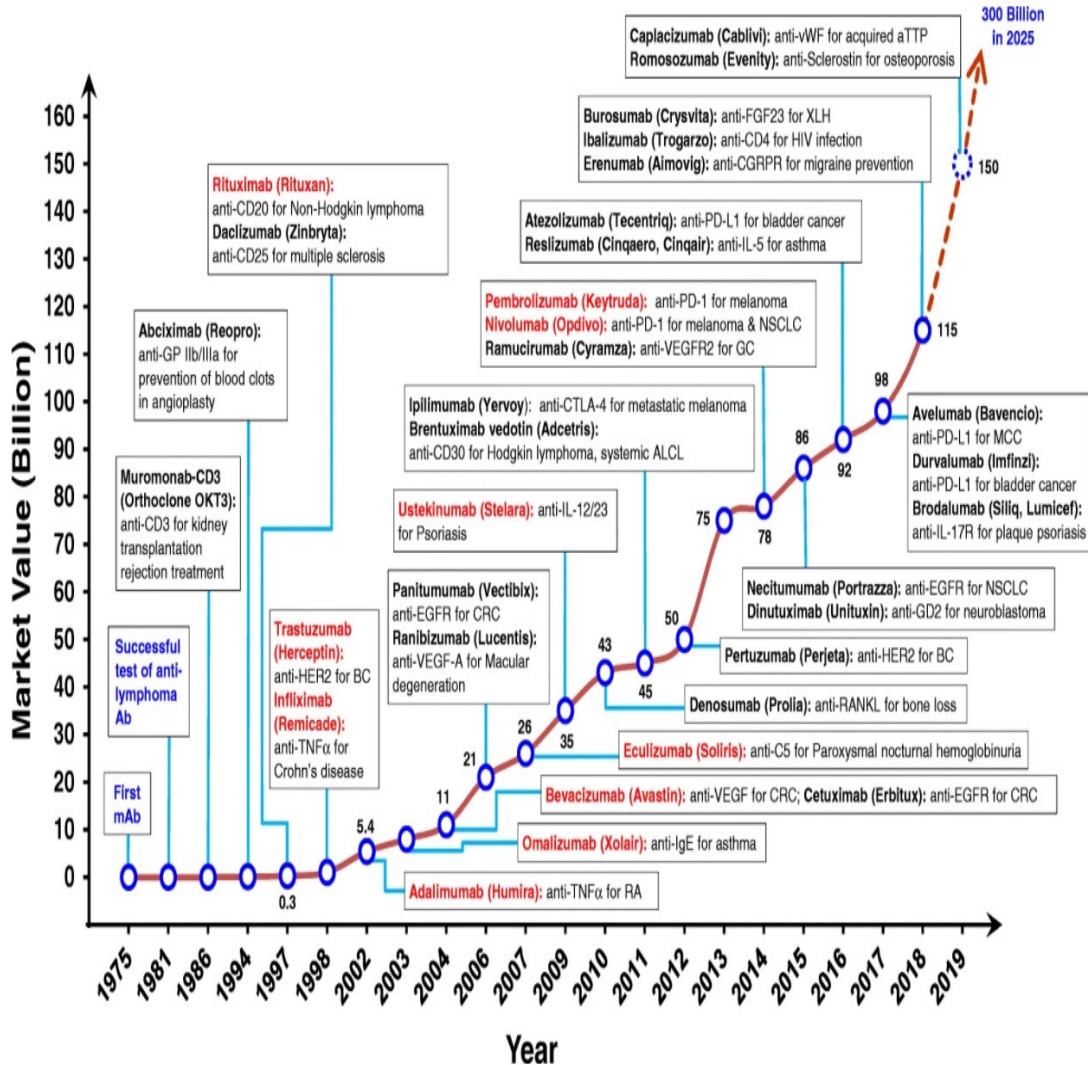




Terápiás antitestek forgalma^[23.]



1 g arany vs 100 mg infliximab
 9.950 Ft vs 153.549 Ft
 (támogatott ár)
 (2021.02.24.)



- Rekomináns fehérjék emlős sejtkultúrából (133 Kg 2013-ban)
- Monoklonális antitestek emlős sejtkultúrából (8182 Kg 2013-ban)
- Monoklonális antitest fragmentumok, konjugátumok vagy fúziós fehérjék emlős sejtkultúrából (1677 Kg 2013-ban)
- Rekomináns fehérjék (inzulin is) mikrobiális fermentációból (8497 Kg 2013-ban)
- Monoklonális antitestek mikrobiális fermentációból (102 Kg 2013-ban)
- Növény sejtkultúrából származó készítmények (189 g 2013-ban)

Köszönjük a figyelmet!

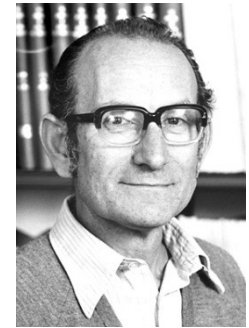


Gerald M. Edelman Rodney R. Porter



1972-es Fiziológiai és orvostudományi Nobel-díj:

„Az antitestek kémiai szerkezetével kapcsolatos felfedezéseikért”.^[24.]



Niels K. Jerne Georges J.F. Köhler César Milstein



1984-es Fiziológiai és orvostudományi Nobel-díj:

„Az immunrendszer specifikus szabályozó mechanizmusának és felépítésének, valamint a monoklonális ellenanyagok termelési elvének felfedezéséért”.^[25.]

Hivatkozások 1.

1. Cooper HM¹, Paterson Y: **Production of polyclonal antisera.** *Curr Protoc Neurosci.* 2009 Jul;Chapter 5:Unit 5.5. doi: 10.1002/0471142301.ns0505s48.
2. Leenaars M¹, Hendriksen CF: **Critical steps in the production of polyclonal and monoclonal antibodies: evaluation and recommendations.** *ILAR J.* 2005;46(3):269-79.
3. Reed SG¹, Orr MT, Fox CB: **Key roles of adjuvants in modern vaccines.** *Nat Med.* 2013 Dec;19(12):1597-608. doi: 10.1038/nm.3409. Epub 2013 Dec 5.
4. Olafsdottir T¹, Lindqvist M¹, Harandi AM²: **Molecular signatures of vaccine adjuvants.** *Vaccine.* 2015 May 16. pii: S0264-410X(15)00596-4. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.04.099.
5. Stills HF Jr¹: **Adjuvants and antibody production: dispelling the myths associated with Freund's complete and other adjuvants.** *ILAR J.* 2005;46(3):280-93.
6. Glück R¹, Burri KG, Metcalfe I: **Adjuvant and antigen delivery properties of virosomes.** *Curr Drug Deliv.* 2005 Oct;2(4):395-400.
7. Andrew SM¹, Titus JA: **Purification of immunoglobulin G.** *Curr Protoc Immunol.* 2001 May;Chapter 2:Unit 2.7. doi: 10.1002/0471142735.im0207s21.
8. Köhler G, Milstein C: **Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity.** *Nature.* 1975 Aug 7;256(5517):495-7.
9. Tomita M¹, Tsumoto K: **Hybridoma technologies for antibody production.** *Immunotherapy.* 2011 Mar;3(3):371-80. doi: 10.2217/imt.11.4.
10. Irla M¹, et al.: **Three-dimensional visualization of the mouse thymus organization in health and immunodeficiency.** *J Immunol.* 2013 Jan 15;190(2):586-96. doi: 10.4049/jimmunol.1200119. Epub 2012 Dec 17.
11. Freise AC¹, Wu AM²: **In vivo imaging with antibodies and engineered fragments.** *Mol Immunol.* 2015 Apr 28. pii: S0161-5890(15)00360-0. doi: 10.1016/j.molimm.2015.04.001.
12. van Dongen GA¹, Visser GW, Lub-de Hooge MN, de Vries EG, Perk LR: **Immuno-PET: a navigator in monoclonal antibody development and applications.** *Oncologist.* 2007 Dec;12(12):1379-89. doi: 10.1634/theoncologist.12-12-1379.

Hivatkozások 2.

14. Mack F¹, Ritchie M¹, Sapra P²: **The next generation of antibody drug conjugates.** *Semin Oncol.* 2014 Oct;41(5):637-52. doi: 10.1053/j.seminoncol.2014.08.001. Epub 2014 Aug 12.
15. FDA: **Pfizer Voluntarily Withdraws Cancer Treatment Mylotarg from U.S. Market** (<http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm216448.htm>)
16. Kontermann RE¹, Brinkmann U²: **Bispecific antibodies.** *Drug Discov Today.* 2015 Feb 26. pii: S1359-6446(15)00077-X. doi: 10.1016/j.drudis.2015.02.008.
17. Seimetz D¹: **Novel monoclonal antibodies for cancer treatment: the trifunctional antibody catumaxomab (removab).** *J Cancer.* 2011;2:309-16. Epub 2011 May 25.
18. Baldo BA¹: **Chimeric fusion proteins used for therapy: indications, mechanisms, and safety.** *Drug Saf.* 2015 May;38(5):455-79. doi: 10.1007/s40264-015-0285-9.
19. Sgro C¹: **Side-effects of a monoclonal antibody, muromonab CD3/orthoclone OKT3: bibliographic review.** *Toxicology.* 1995 Dec 20;105(1):23-9.
20. Renders L, Valerius T: **Engineered CD3 antibodies for immunosuppression.** *Clin Exp Immunol.* 2003 Sep;133(3):307-9.
21. Atzeni F¹, Talotta R, Salaffi F, Cassinotti A, Varisco V, Battellino M, Ardizzone S, Pace F, Sarzi-Puttini P: **Immunogenicity and autoimmunity during anti-TNF therapy.** *Autoimmun Rev.* 2013 May;12(7):703-8. doi: 10.1016/j.autrev.2012.10.021. Epub 2012 Nov 30.
22. Brüggemann M¹, Taussig MJ: **Production of human antibody repertoires in transgenic mice.** *Curr Opin Biotechnol.* 1997 Aug;8(4):455-8.
23. WHO: **General policies for monoclonal antibodies** (<http://www.who.int/medicines/services/inn/generalpoliciesmonoclonalantibodiesjan10.pdf>)
24. Ecker DM¹, Jones SD, Levine HL: **The therapeutic monoclonal antibody market.** *MAbs.* 2015;7(1):9-14. doi: 10.4161/19420862.2015.989042.
24. Nobelprize.org: **The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1972** (http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1972/)
25. Nobelprize.org: **The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1984** (http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1984/)
26. Ruei-Min Lu et al.: **Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases.** *J of Biomed Sci.* 2020 January; 27:1 <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0592-z>
27. <https://www.antibodysociety.org/resources/approved-antibodies/>