

# אימונולוגיה בשירות הביוטכנולוגיה

כתיבה: ד"ר רותם פניגר בריש



המסלול לחינוך תלמידי תואר ראשון  
משדד החינוך



### **פיתוח וכתובה**

ד"ר רותם פניגר בריש

### **ייעוץ אקדמי מדעי**

פרופ' עדית בן-ברוך, אוניברסיטת תל-אביב

### **ליווי פיתוח וייעוץ דידיקטי**

יהודית דסקלו, מפמ"רית ביוטכנולוגיה

### **עריכה**

חיה קול-אל אייכנראנד

### **טיפול בהסדרת זכויות יוצרים**

ד"ר מאשה גרובמן

### **עריכה גרפית**

דגנית סטנייצקי

### **איורים**

אורי תור-קם

### **גוף מבצע**

רשת עמל

### **ניהול, ריכוז והפקה**

רעות מידד, רשת עמל

### **פיקוח על**

ד"ר רונית אשכנזי, רשת עמל

© כל הזכויות שמורות למשרד החינוך

יולי 2019, תמוז תשע"ט

## תלמידים יקרים,

מעריך הלימודים במגמת הביוטכנולוגיה חושף אתכם לענף מדעי מרתק הנמצא בתנופת התפתחות והמשלב מחקר, פיתוח ושימוש במערכות ביולוגיות (ברמה תאית ומולקולרית) לתועלת ולרווחת האדם והחברה.

מגמת הביוטכנולוגיה מתאפיינת ברב-תחומיות יישומית, ומהווה צומת שבו מתאגדים מדעי הבסיס, טכנולוגיה מתקדמת ותעשייה. יישומי הביוטכנולוגיה הם בתחומים רבים ומגוונים כמו: אבחון וריפוי מחלות, פיתוח תרופות, קידום הבריאות, מזון, חקלאות, תעשייה ואיכות הסביבה.

הפקדתי בידי צוות מורי המגמה את כתיבת חומרי הלימוד העדכניים ביותר בתחומי הביוטכנולוגיה. במהלך לימודכם תחשפו לידע חדשני, טכנולוגיה פורצת דרך, אתגרים חשיבתיים, התנסויות מרתקות וסביבת למידה חדשנית אשר יובילו אתכם להצלחה.

זכרו, בידכם הכוח והידע לקחת חלק חשוב בפיתוח הפוטנציאל המדעי וההנדסי של הדור הבא בישראל.

## יהודית דסקלו

ממונה מגמות (עתירות מדע) ומפמ"רית ביוטכנולוגיה

מינהל מדע וטכנולוגיה

משרד החינוך

## 7..... הקדמה

## 8..... פרק 1: התגובה החיסונית

- 10..... 1.1 | איברי מערכת החיסון: מח העצם, בלוטת התימוס, מערכת הלימפה והטחול
- 11..... 1.2 | התפתחות תאי הדם מתאי גזע המטופויאטיים
- 12..... 1.3 | תגובה חיסונית מולדת
- 13..... 1.4 | מערכת החיסון הנרכשת
- 16..... 1.5 | פעולת תאי T במערכת החיסון הנרכשת
- 19..... 1.6 | פעולת תאי B במערכת החיסון הנרכשת
- 22..... 1.7 | תגובה חיסונית ראשונית ותגובה חיסונית שניונית, זיכרון חיסוני
- 24..... שאלות סיכום לפרק 1

## 28..... פרק 2: מבנה הנוגדן והיקשרותו לאנטיגן

- 28..... 2.1 | מבנה הנוגדן: השרשרת קלה, השרשרת כבדה והקשרים המייצבים
- 31..... 2.2 | יצירת תצמיד נוגדן-אנטיגן וזיקת הקישור
- 32..... 2.3 | סוגי הקשרים הכימיים המייצבים את התצמיד נוגדן-אנטיגן
- 33..... שאלות סיכום לפרק 2

## 35..... פרק 3: ייצור נוגדנים בתעשייה - מטרות ושימושים כלליים

- 35..... 3.1 | נוגדנים רב-שבטיים (פוליקלונליים)
- 35..... 3.1.1 | ייצור מעבדתי של נוגדנים רב-שבטיים
- 36..... 3.1.2 | ניקוי והפקה של נוגדנים מנוזל הדם בעזרת עמודת זיקה
- 37..... 3.1.3 | אפיון הנוגדנים, יתרונות וחסרונות בשימוש בנוגדנים רב-שבטיים
- 38..... 3.1.4 | דוגמאות לשימושים בנוגדנים רב-שבטיים
- 39..... שאלות סיכום לתת-פרק 3.1: נוגדנים רב-שבטיים (פוליקלונליים)
- 41..... 3.2 | נוגדנים חד-שבטיים (מונוקלונליים) עכבריים
- 42..... 3.2.1 | ייצור נוגדנים חד-שבטיים בתרבית תאים
- 44..... 3.2.2 | אפיון הנוגדנים החד-שבטיים: היתרונות והחסרונות בשימוש בהם
- 44..... 3.2.3 | סוגי השימושים בנוגדנים חד-שבטיים
- 45..... 3.2.4 | טבלה 2: השוואה מסכמת בין מאפייני הנוגדנים הרב-שבטיים לחד-שבטיים
- 46..... שאלות סיכום לתת-פרק 3.2: נוגדנים חד-שבטיים (מונוקלונליים) עכבריים

48	.....   יצירת נוגדנים מהונדסים גנטית
48	.....   3.3.1 מטרת יצירתם של נוגדנים מהונדסים גנטית, מאפייניהם ודוגמאות נבחרות
49	.....   3.3.2 נוגדני כלאיים (כימריים) עכבר-אדם, נוגדנים מאושרים ונוגדנים אנושיים מהונדסים
51	.....   3.3.3 נוגדנים חד-שרשרתיים: מבנה, יתרונות וחסרונות
52	.....   3.3.4 יצירת נוגדנים מהונדסים מתאי חיידקים ומתאים אוקריוטיים
53	.....   שאלות סיכום לתת-פרק 3.3: יצירת נוגדנים מהונדסים גנטית
	.....   3.3.5 ייצור נוגדנים חד-שבטיים אנושיים בעכברים טרנסגניים ונוגדנים חד-שרשרתיים
55	.....   בעזרת ספריית פאגים

#### **פרק 4: אימונודיאגנוסטיקה - אבחון באמצעות נוגדנים** ..... 58

60	.....   4.1 שיטות המבוססות על כושר ההצמחה (אגלוטינציה) של נוגדנים
60	.....   4.1.1   תהליך ההצמחה (אגלוטינציה, המאגלוטינציה)
60	.....   4.1.2   דוגמאות ליישום שיטת ההצמחה: זיהוי סוגי דם, קביעת היריון
62	.....   4.1.3   יתרונותיו וחסרונותיו של האבחון בשיטת ההצמחה
63	.....   4.2   שיטת ELISA - בוחן אימונו-אנזימטי על משטח מוצק
64	.....   4.2.1   שיטת ELISA ושלביה
65	.....   4.2.2   דוגמאות ליישומים בשיטת ELISA
67	.....   4.3   שיטת Western blot (תספיג מערבי)
67	.....   4.3.1   שיטת Western blot: שלבים ועקרונות
71	.....   4.3.2   דוגמאות ליישומים בשיטת Western blot: זיהוי אנטיגנים בתאים, זיהוי נגיפים
72	.....   4.4   סימון רקמות ותאים באמצעות נוגדנים הנושאים אנזים או חומר פלואורסצנטי
	.....   4.4.1   שיטות לסימון רקמות ותאים באמצעות נוגדנים המסומנים
72	.....   באנזים או בחומר פלואורסצנטי - עקרונות ושלבי ביצוע
73	.....   4.4.2   דוגמאות ליישומי השימוש בנוגדנים המסומנים באנזים או בסימון הפלואורסצנטי
75	.....   4.5   Flow cytometry (FACS - Fluorescence Activated Cell Sorting)
75	.....   4.5.1   עקרונות שיטת ה-Flow cytometry
78	.....   4.5.2   יישומי שיטת ה-Flow cytometry
79	.....   שאלות סיכום לפרק 4: אימונודיאגנוסטיקה - אבחון באמצעות נוגדנים

#### **פרק 5: ריפוי מחלות באמצעות מרכיבי מערכת החיסון ואימונותרפיה** ..... 85

86	.....   5.1   החיסון הפעיל והחיסון הסביל
86	.....   5.1.1   עקרון פעולתו של החיסון הפעיל, יתרונותיו וחיבתו לבריאות הציבור
89	.....   5.1.2   עקרון פעולת החיסון הסביל

89	.....	5.1.3   דוגמאות לייצור של חיסון סביל והשימוש בו
92	.....	שאלות סיכום לתת-פרק 5.1: החיסון הפעיל והחיסון הסביל
94	.....	5.2   אימונותרפיה ושימוש בנוגדנים לטיפול במחלת הסרטן
94	.....	5.2.1   עקרונות ההתחמקות של תאים סרטניים ממערכת החיסון
95	.....	5.2.2   נוגדנים מצומדים לתרופה הפועלים כתרופות מונחות של מולקולות טוקסיות
96	.....	5.2.3   נוגדנים המשמשים לחסימת פעולתם של גורמי גידול בתהליך הסרטני
		5.2.4   חיסון באנטיגנים ספציפיים של תאי הגידול הסרטני לצורך יצירת תגובה חיסונית
98	.....	מותאמת אישית כנגד תאים אלה
99	.....	5.2.5   נוגדנים המונעים את שיתוק פעילותם של תאי T כנגד הגידול הסרטני
102	.....	5.2.6   שימוש בתאי T מהונדסים: תאי CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T Cells)
105	.....	שאלות סיכום לתת-פרק 5.2: אימונותרפיה ושימוש בנוגדנים לטיפול במחלת הסרטן
107	.....	רשימת מקורות

# הקדמה

מדע האימונולוגיה עוסק בחקר מערכת החיסון. הייעוד של מערכת החיסון הוא להגן על האורגניזם מפני מגוון רחב של גורמי מחלות (פתוגנים) – נגיפים (וירוסים), חיידקים (בקטריות) וטפילים (פרזיטים) הפועלים בדרכים רבות ובשיטות מגוונות. השונות הרבה של גורמי המחלות המזיקים, העלולים לתקוף אורגניזם מסוים, דורשת פיתוח מתמיד של דרכי התמודדות מותאמות, המאפשרות לאורגניזם להתגונן בדרך יעילה עם כל סוג של מתקפה.

מערכת החיסון בנויה ממרכיבים רבים, ובהם איברים, תאים ומולקולות הפועלים יחד בתיאום מלא ובדרכי פעולה שונות. כך נוצרת רשת הגנה מורכבת ומדויקת להתמודדות עם גורמי מחלות רבים ושונים. ההתפתחות מרחיקת הלכת בשיטות המחקר בשנים האחרונות אפשרה בין השאר את ריצוף (מלשון רִצְף) הגנום האנושי, אשר הקנה הבנה מעמיקה של המידע הצפון בו. יכולות ניתוח ביו-אינפורמטיות מתקדמות, שיטות של הנדסה גנטית וטכנולוגיות הדמיה ואבחון ביחס למולקולות ולתאים – כל אלו ועוד תרמו להבנת מורכבותה של מערכת החיסון ולמיפוי סגולותיה. כיום יש מגוון רחב של דרכי פעולה בתחומי המניעה, הטיפול והריפוי של מחלות שעד לא מכבר המין האנושי ניצב כנגדן כמעט חסר אונים. שיטות המחקר המתקדמות אף תרמו לפריצת דרך חשובה בתחומי ההתמחות ברפואה מותאמת אישית, כלומר – שימוש מושכל במערכת החיסון הייחודית לכל אדם כדי למגר בדרך מותאמת וייחודית רק לו מבחר גדול של גורמי מחלה.

מטרתה של תכנית הלימודים באימונולוגיה היא להקנות ידע בסיסי על מבנה מערכת החיסון ביונקים, על התאים והמולקולות הפועלים במערכת זו, וכן על תהליך יצירת התגובה החיסונית בגוף ופעולתם של תאי מערכת החיסון, ובייחוד הלימפוציטים מסוג T ומסוג B. התכנית מייחדת מקום נכבד להבנה של תהליך יצירת הנוגדנים בגוף לעומת ייצור נוגדנים בתעשייה והשימושים בנוגדנים הן למטרות מחקר והן לאבחון ולטיפול רפואי. הפרק האחרון בתכנית הלימודים עוסק בדרכי הטיפול המתקדמות שפותחו בשנים האחרונות, המתבססות על מרכיבי מערכת החיסון. הפרק מתמקד בשיטות אימונותרפיה המשתמשות במערכת החיסון של האדם עצמו כדי לטפל במבחר גדול של מחלות, ובראשן מחלת הסרטן, בדרך האפקטיבית ביותר למען החולה.



# פרק 1: התגובה החיסונית

## מבוא – מבנה מערכת החיסון ויצירת התגובה החיסונית

מערכת החיסון בנויה משלוש שכבות הגנה משולבות המסייעות יחד ליצור הגנה מיטבית לגוף. שכבת ההגנה הראשונה כוללת מחסומים למניעה פיזית וכימית של כניסת גורמי מחלות לגוף. בשכבת ההגנה השנייה מזהים גורמים זרים החודרים לגוף ומושמדים באמצעות מערכת החיסון המולדת. שכבת ההגנה השלישית, והספציפית ביותר, באה לידי ביטוי באמצעות מערכת החיסון הנרכשת, המייצרת תגובה חיסונית מיטבית וייחודית על ידי זיהוי גורם המחלה הספציפי, השמדתו ויצירת זיכרון חיסוני כנגדו, במטרה למנוע הישנות של אותן מחלות.

הן במערכת החיסון המולדת והן במערכת החיסון הנרכשת, פועלים תאי הדם הלבנים (לויקוציטים) ליצירת תגובה חיסונית יעילה באופן משולב ובמגוון מנגנונים.

אחד העקרונות המנחים את פעילות מערכות ההגנה של מערכת החיסון הוא אבחנה בין גורם זר ל"עצמי". כך מושמדים גורמי המחלות ונמנעת פגיעה בגוף עצמו. מערכות ההגנה כוללות:

### א. מחסומים למניעת כניסתם של גורמי מחלות

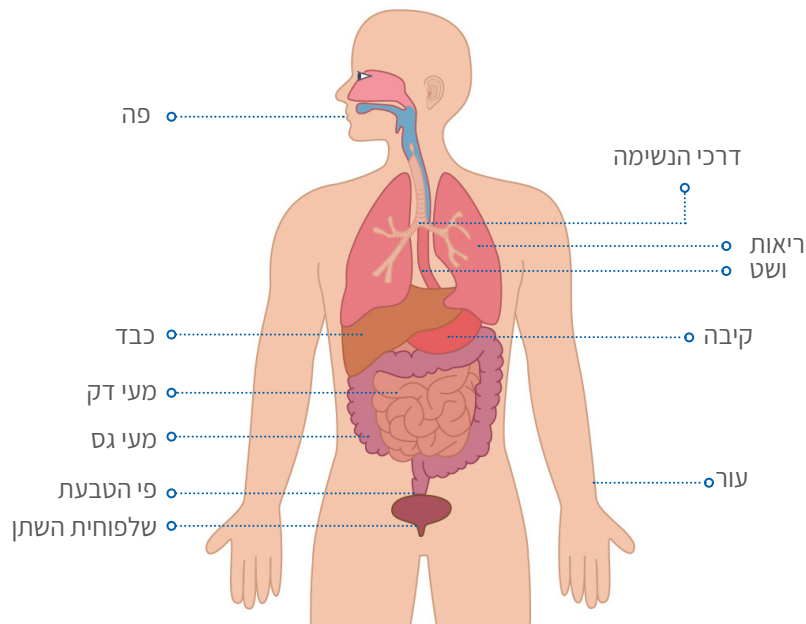
מחסומים אלה מונים שני מרכיבים עיקריים:

1. **הגנה פיזית** – מתבססת על שכבת תאים מסוג אפיתל הנמצאת בעור ופועלת כחומה המונעת פיזית כניסת גורמים זרים. יתר על כן, תאי אפיתל המצויים במערכות הגוף החשופות אל החוץ – מערכת העיכול, מערכת ההפרשה החיצונית ומערכת המין – מפרישים נוזלים וריר וכוללים בחלק מהאיברים מעין ריסים המאפשרים את מניעת כניסתם של מזהמים וסילוקם (ר' איור 1).
2. **הגנה כימית** – מושגת באמצעות הפרשה של חומרים נוגדי חיידקים (אנטי-בקטריאליים), כגון האנזים ליזוזים (Lysozyme) המצוי בנוזלי הגוף, ברקמות ובתאים וכן חומצה בעלת pH נמוך המצויה בקיבה. חומרים אלה מעכלים ומנטרלים גורמי מחלות החודרים לגוף.



### איור 1:

העור ומערכות גוף אחרות בעלות רקמת אפיתל, המשמשת להגנה פיזית נגד גורמים זרים



## ב. מערכת החיסון המולדת, הכוללת הפעלת תאים בולעניים (פאגוציטים) ממגוון סוגים

כניסת גורמי מחלה אל הגוף מפעילה, כעבור דקות ספורות בלבד, תאי דם לבנים מסוגים שונים. תאים אלה מזהים את גורמי המחלה הנכנסים לגוף הודות למולקולות הנפוצות בגורמי מחלה (פתוגנים) רבים. מולקולות אלה מעוררות את תגובת התאים הבולעניים. תגובה זו אינה ספציפית לסוג מסוים של גורם מחלה. כחלק מהתגובה, תאי הדם הלבנים מבצעים תהליך פאגוציטוזה כנגד הגורם הזר שחדר לגוף וזוהה. התהליך כולל הכנסת הגורם הזר לתוך התא, פירוקו, השמדתו ולבסוף הצגתו על ידי חלק מהתאים הבולעניים לתאי מערכת החיסון הנרכשת.

## ג. מערכת החיסון הנרכשת המובילה להשמדת הפתוגן וליצירת זיכרון חיסוני ספציפי

מערכת החיסון הנרכשת מורכבת בעיקר מתאי דם לבנים הנקראים לימפוציטים, משני סוגים: תאי T ותאי B, שהם בעלי קולטנים (רצפטורים) המכירים חלקי פתוגנים באופן ספציפי. בעקבות זאת, מופעלים הלימפוציטים, מתרבים ומתמיינים ליצירת התגובה החיסונית הספציפית וליצירת זיכרון חיסוני כנגד אותם פתוגנים ספציפיים.

## 1.1 | איברי מערכת החיסון: מח העצם, בלוטת התימוס, מערכת הלימפה והטחול

מערכת החיסון בנויה מאיברים לימפואידים ראשוניים ושניונים ומרקמות לימפואידיות.

### א. האיברים הלימפואידים הראשוניים

1. **מח העצם** – רקמה המצויה בתוך חלל העצמות בגוף, ובה מתרחש תהליך ההמטופויאזה (Hematopoiesis). בתהליך זה נוצרים ומתמיינים לתפקידם תאי הדם האדומים והלבנים מתאי גזע המסוגלים להתמייין לכל סוגי תאי מערכת החיסון.
2. **בלוטת התימוס** – נמצאת בבית החזה בסמוך ללב. בלוטה זו אחראית על תהליך ההתמיינות של הלימפוציטים מסוג T, ופעילותה פוחתת בהדרגה לאחר תקופת הילדות. בבלוטה זו מושמדים, בתהליך ברירה שלילית, תאי T היכולים להגיב כנגד **אנטיגנים עצמיים** בגוף. פעולה זו של בלוטת התימוס אחראית לפיתוחה של **הסבילות החיסונית** של תאי ה-T – מצב שנועד למנוע תגובה חיסונית כנגד אנטיגנים עצמיים בגוף, במטרה להגן על הגוף מפני תקיפה עצמית.

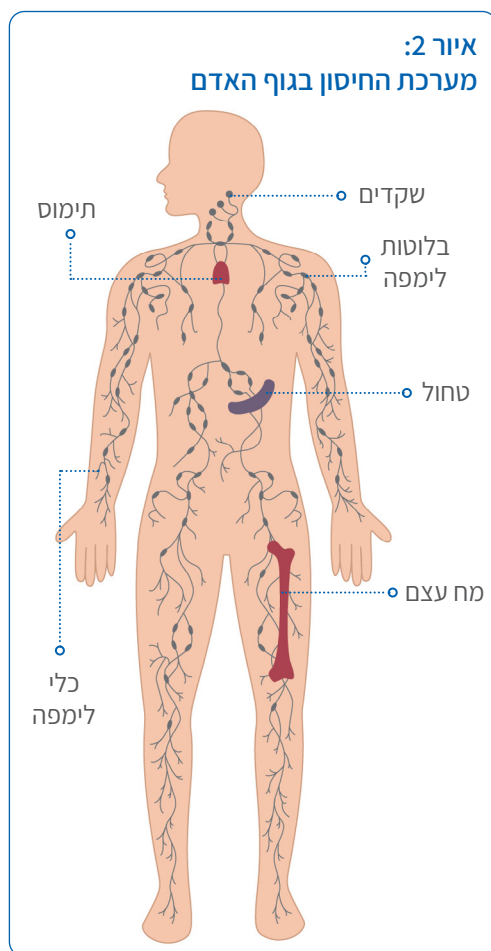
### ב. האיברים הלימפואידים השניונים

האיברים הלימפטיים השניוניים כוללים את הטחול, וכן בלוטות לימפה המהוות חלק מהמערכת הלימפטית. המערכת הלימפטית מכילה גם כלי לימפה.

1. **כלי לימפה** – מערכת צינורות המרושתת בגוף במקביל למערכת הדם. כלי הלימפה מקשרים בין איברי מערכת הלימפה ובין נוזל הלימפה לנוזל הדם. כלי הלימפה אף אוספים גורמי מחלה מרקמות הגוף אל בלוטות הלימפה, ונוזל הלימפה היוצא מהבלוטות נושא לימפוציטים פעילים ומרכיבים נוספים לדם.
2. **בלוטות לימפה** – נמצאות באזורי הגוף השונים, כגון בית השחי, המפשעה והצוואר. הבלוטות מנקזות גורמי מחלה מהגוף, באמצעות נוזל הלימפה הנע אל הבלוטות בכלי הלימפה. בבלוטות נוצרת אינטראקציה בין תאי מערכת החיסון, במטרה להפעיל תגובה חיסונית ספציפית כנגד **האנטיגנים** שאליהם נחשף האדם.
3. **הטחול** – איבר הנמצא בחלל הבטן מאחורי הקיבה, המטפל בגורמי המחלה שחדרו לגוף דרך זרם הדם. בטחול מתרחשות תגובות חיסוניות רבות, הכוללות בעיקר פעילות של לימפוציטים.

### ג. רקמות לימפואידיות

מהוות חלק ממערכות הגוף החשופות אל החוץ, כגון מערכת העיכול, מערכת הנשימה ומערכת איברי המין, ומטרתן היא איתור כניסת גורמים זרים ומזיקים לגוף והפעלת התגובה החיסונית.

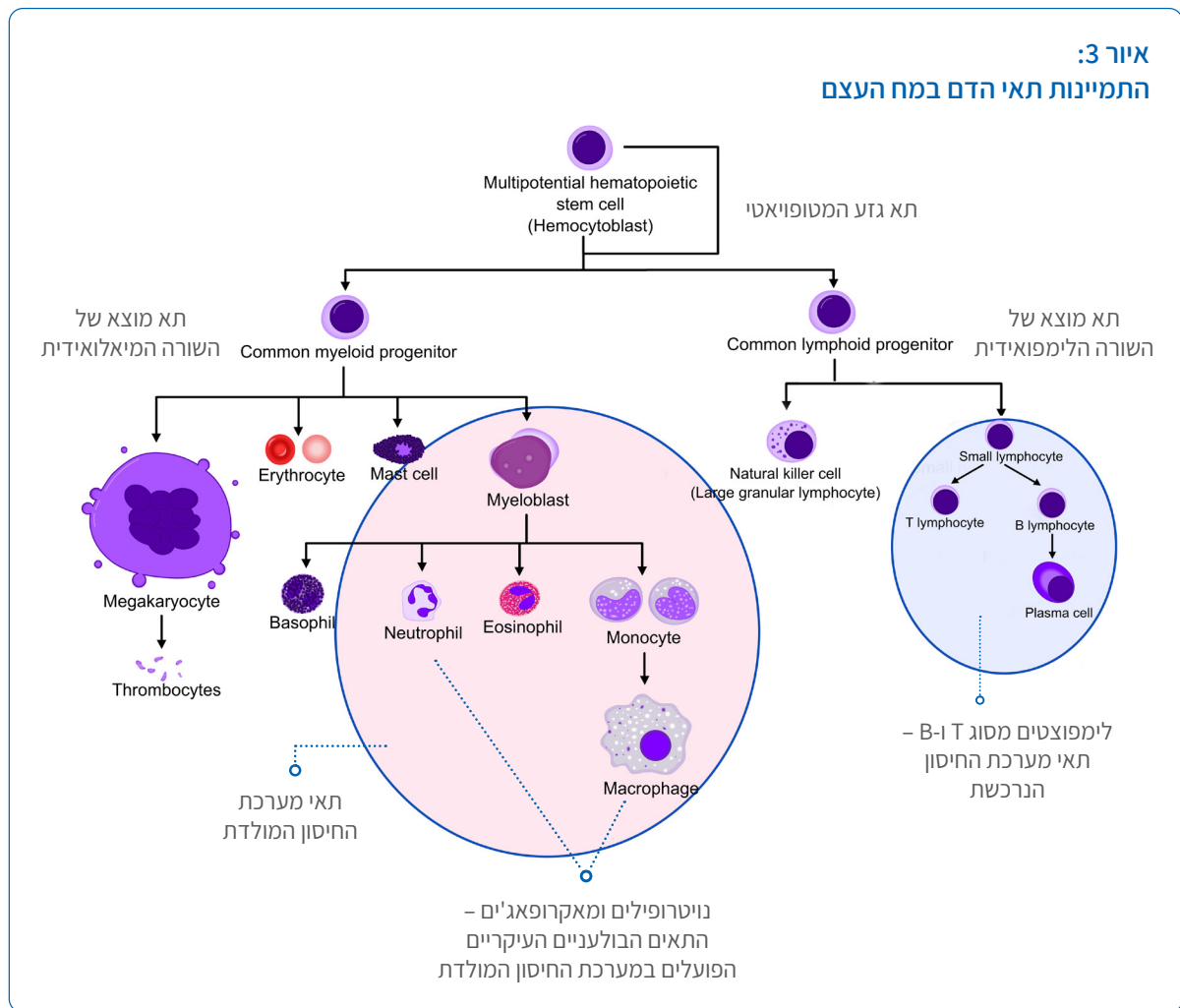


## 1.2 | התפתחות תאי הדם מתאי גזע המטופויאטיים

תהליך ההמטופויאזה – תהליך זה, האחראי ליצירת כל תאי הדם, מתרחש במח העצם. ראשיתו בתאים הקרויים תאי גזע המטופויאטיים, המשמשים מוצא לשתי שורות תאים: שורת התאים המיאולואידית ושורת התאים הלימפואידית. כפי שמתואר בהמשך, תאי שורות אלו מתמיינים לאחר מכן ליצירת כל תאי הדם האדומים והלבנים (איור 3).

שורת התאים המיאולואידית – מתאי שורה זו מתפתחים תאי הדם האדומים, תאי המגה-קריוציטים היוצרים את טסיות הדם וכן תאי הדם הלבנים הבולעניים ו/או הגרנולריים, השותפים לתגובה החיסונית המולדת.

שורת התאים הלימפואידית – שורה זו מייצרת את הלימפוציטים לסוגיהם, ובהם לימפוציטים מסוג B-T האחראים לתגובה החיסונית הנרכשת והספציפית. מרבית התפתחות הלימפוציטים מסוג T נשלמת בבלוטת התימוס.



## 1.3 | תגובה חיסונית מולדת

בעקבות חדירת גורם מחלה דרך המחסומים הפיזיים של הגוף וכניסתו לרקמות הגוף, מופעלת מערכת התגובה החיסונית המולדת. בתגובה זו משתתפים סוגים של תאי דם לבנים המסוגלים לזהות באופן לא ספציפי מולקולות המאפיינות סוגים רבים של גורמי מחלה (פתוגנים), ובעיקר חיידקים ונגיפים. בעקבות זיהוי גורמי המחלה, מבוצע על ידי התאים הבולעניים תהליך של פאגוציטוזה.

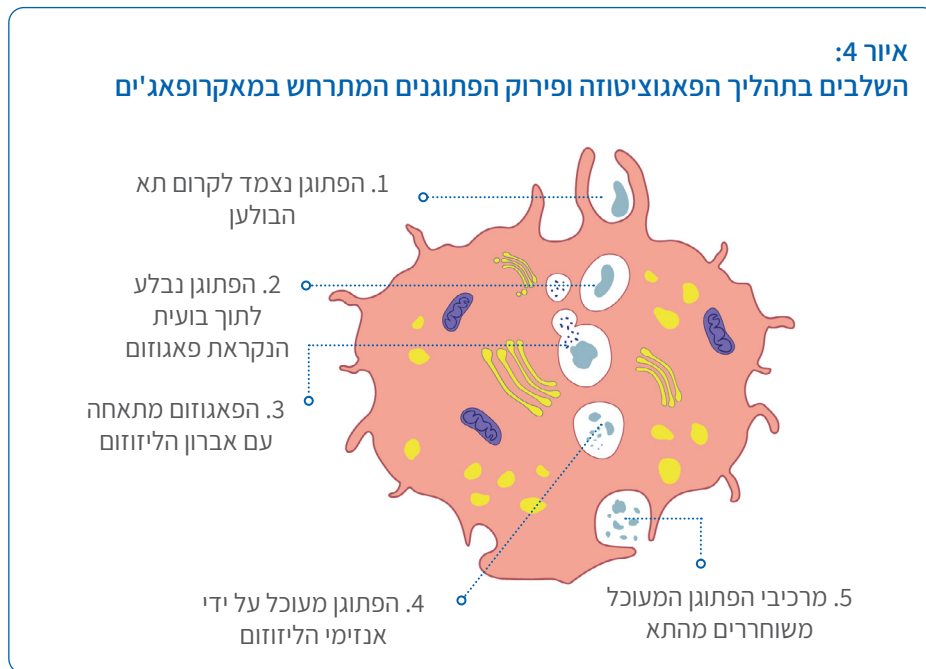
תגובה נוספת המתרחשת על ידי מנגנוני הגנה אלו היא **תגובת הדלקת**. תגובה זו נועדה להכשיר את הרקמה לכניסה מוגברת של תאי מערכת החיסון למקום הפגיעה או למקום חדירתו של גורם המחלה.

### תהליך הפאגוציטוזה

פאגוציטוזה הוא תהליך בליעה תאית המאפיין בעיקר את מערכת החיסון המולדת. בתהליך זה משתתפים כמה סוגים של תאי דם לבנים בולעניים, ובראשם **נויטרופילים ומאקרופאג'ים**.

תאים אלו בולעים מגוון רחב של גורמי מחלות וגורמים לפירוקם. התהליך מורכב מכמה שלבים (ר' איור 4).

תגובה זו של מערכת החיסון המולדת, שעיקרה זיהוי הגורם הזר ועיכולו על ידי תא בולען, מאפשרת בהמשך את הפעלתם של תאי T של מערכת החיסון הנרכשת ובעקבותיהם גם הפעלה של תאי B.



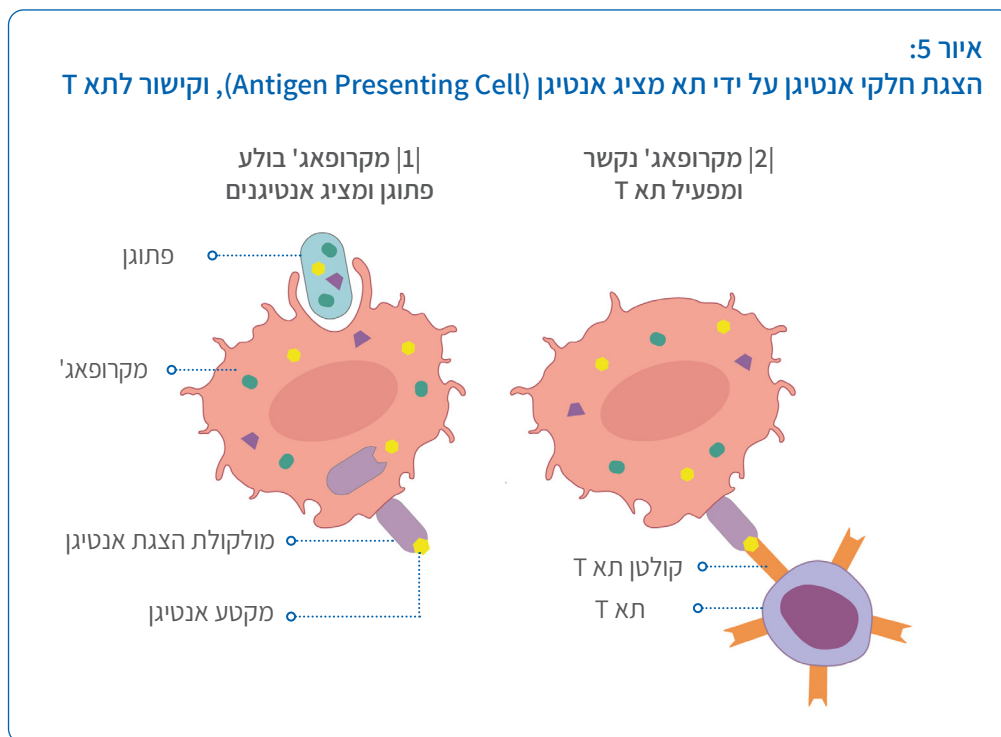
[נויטרופיל מתביית על חיידק ובולע אותו.](#)

[Neutrophil Phagocytosis – White Blood Cell Eats Staphylococcus Aureus Bacteria](#)



## הצגת חלקי פתוגן לתאי T על ידי תאים בולעניים

בעקבות תהליך הפאגוציטוזה, מציגים המקרופאגים על קרום התא שלהם חלקים ממולקולות שמקורן בגורם הזר המעוכל; מולקולות אלו קרויות אנטיגנים. **תאים מציגי אנטיגנים** אלה קרויים Antigen Presenting Cells (APC). הצגה זו של חלקי האנטיגן הזר על ידי תא הבולען מאפשרת זיהוי ספציפי של האנטיגן על ידי קולטנים המצויים על גבי תאי T וכך נוצר ביניהם קישור המפעיל את תא T הספציפי לאנטיגן.



## 1.4 | מערכת החיסון הנרכשת

מערכת החיסון הנרכשת היא בעלת שתי זרועות פעולה עיקריות להשמדת פתוגנים: (1) זרוע פעילות תאית באמצעות **תאי T-מסייעים** ותאי **T-ציטוטוקסיים** (הורגים); (2) **זרוע הומוראלית** הכוללת הפרשת חלבונים המסיסים בנוזלי הגוף (הומוראלי = נוזל הגוף), כתגובת נגד לאנטיגנים. לזרוע ההומוראלית שתי דרכי פעולה עיקריות: **נוגדנים** המופרשים בעקבות הפעלת תאי B **ומערכת המשלים** (ר' הרחבה בסעיף 1.6 ד'). פעולתן של שתי הזרועות – התאית וההומוראלית – כנגד האנטיגן היא משולבת ומווסתת על ידי תאי T-מסייעים.

כניסת גורם מחלה לגוף תזוהה לרוב על ידי מערכת החיסון המולדת, באמצעות תאים בולעניים מסוג נייטרופילים או מאקרופאגים. המקרופאגים ותאים מציגי אנטיגן אחרים מציגים את חלקי הפתוגן לתאי T של מערכת החיסון הנרכשת. הפעלתן של תאי T-מסייעים בדרך זו תאפשר לו לעזור להפעלתם של תאי T-ציטוטוקסיים ולתאי B.

כדי שתאי T (המסייעים והציטוטוקסיים) וכן תאי B יוכלו לפעול, הם צריכים להכיר את האנטיגן, ולמעשה יכירו חלקים שלו הקרויים **אפיטופים**. הקישור מתבצע באמצעות קולטנים המבטאים על גבי תאי T ותאי B המכירים באופן ספציפי את האפיטופים. כפי שיתואר בהמשך, תאי T ותאי B מזהים את האפיטופים בדרך שונה זה מזה. לאחר שלב זה, עוברים תאי T ותאי B תהליך של **ברירת שבטים**.

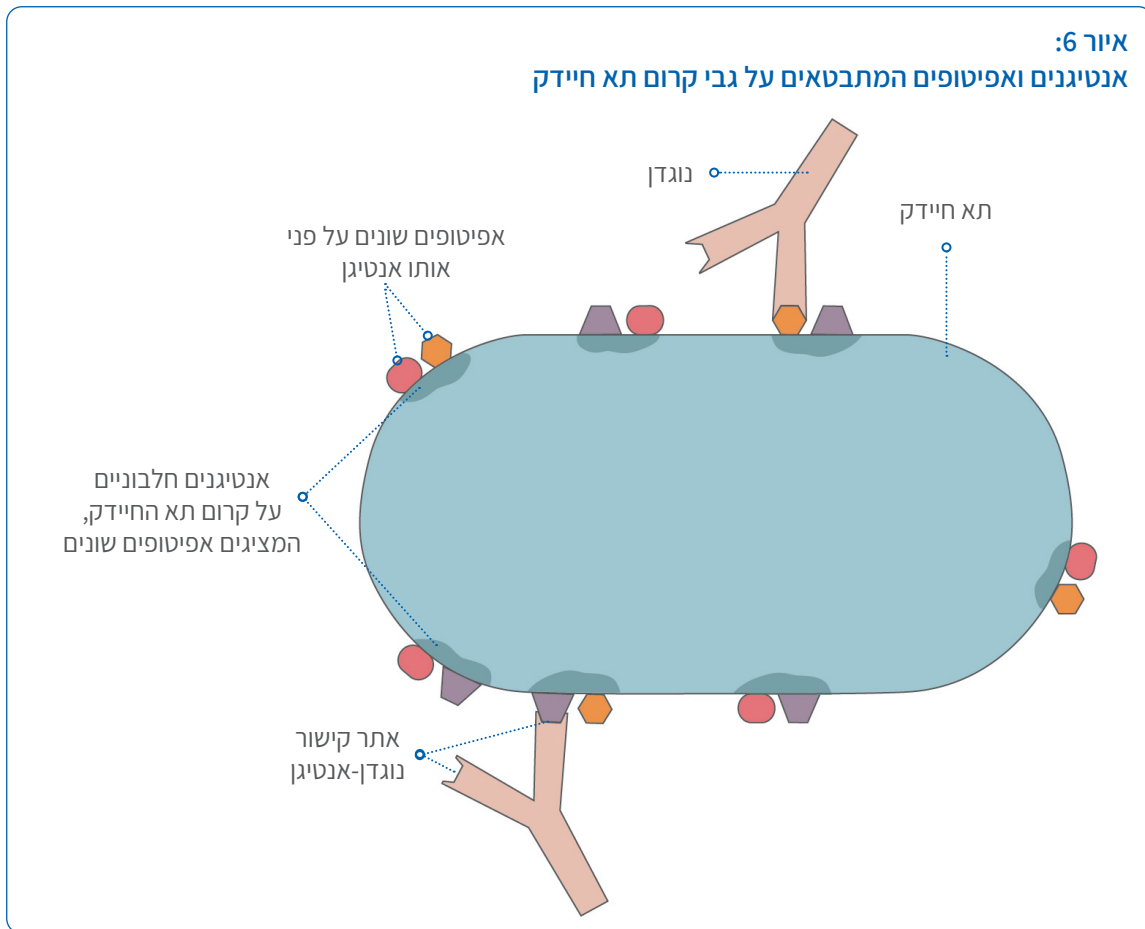
### אנטיגן ואפיטופ במערכת החיסון הנרכשת

מערכת החיסון הנרכשת מאפשרת תגובה חיסונית ספציפית כנגד מולקולות ייחודיות הקרויות "אנטיגנים", המבטאות על פני הגורמים הזרים העלולים לחדור לגוף.

הלימפוציטים משני הסוגים – תאי T ותאי B – המשתתפים בתגובה מזיהם חלקי מולקולה ספציפיים באנטיגן ונקשרים אליהם. חלקי מולקולה אלה נקראים אפיטופים (המונח **דטרמיננטה אנטיגנית** משמש אף הוא לציון חלקי מולקולה אלה, אך לצורך הלימוד נשתמש להלן במונח "אפיטופ"). ההיקשרות של הלימפוציטים לאפיטופ ספציפי מתאפשרת הודות לקולטנים ייחודיים לאפיטופ מסוים, המבטאים על פני הלימפוציטים. אפיטופ יכול להיות מולקולה סוכרית, רצף מסוים של חומצות אמינו בחלבון, או אזור בעל מבנה מרחבי מסוים בחלבון.

תאי ה-T ותאי ה-B מכירים את האפיטופים בצורה שונה. בעוד שתאי ה-T מכירים את האפיטופ כשהוא מוצג להם באמצעות התאים הבולעניים, כמתואר בסוף תת-הפרק הקודם, תאי B מכירים את האפיטופ ישירות, כפי שהוא. באופן דומה, גם הנוגדנים הנוצרים בעקבות השפעול של תאי B מכירים את האפיטופ כפי שהוא, כפי שמודגם באיור 6.

איור 6 מציג הדמיה של חיידק ובו אנטיגנים שונים. כל אנטיגן עשוי להכיל אפיטופים שונים, המזוהים על ידי נוגדנים שונים המכירים אותם באופן ייחודי.



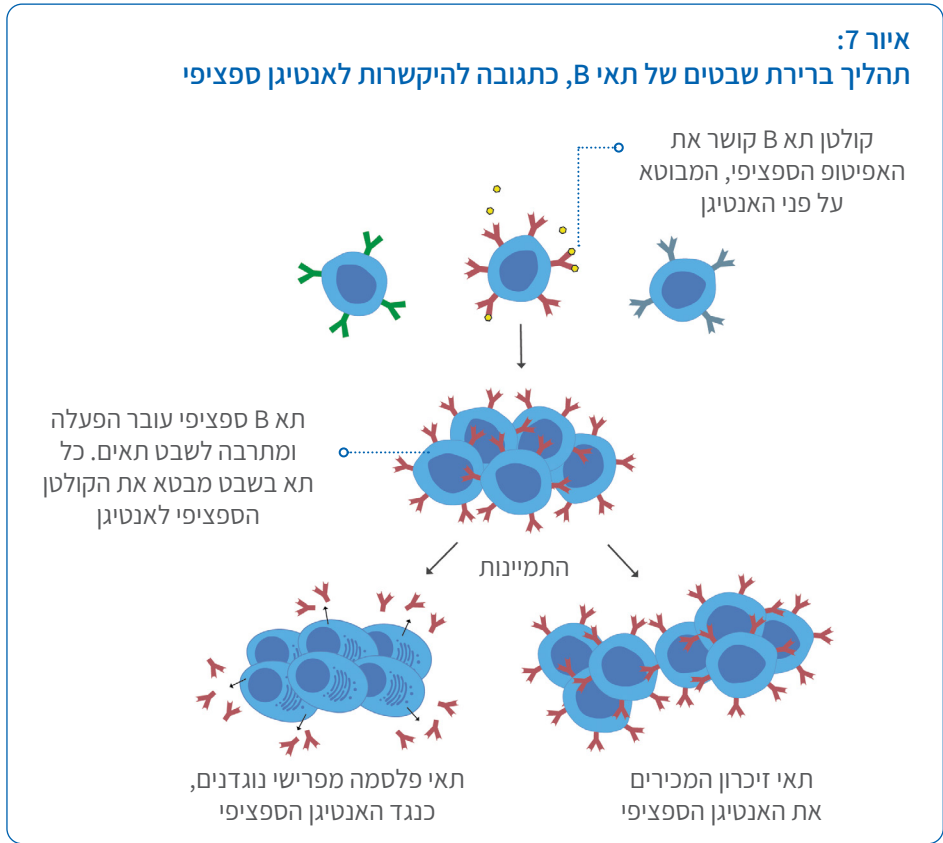
### ברירת השבטים של תאי T ותאי B

לאחר קישור הקולטנים הספציפיים המבטאים על פני תאי T ותאי B לאפיטופ הספציפי של הפתוגן שחדר לגוף, מתרחשת הפעלה של אותו תא. הפעלה זו יוצרת תהליך התמיינות וריבוי של התא המופעל בלבד, **לשבט תאים** ספציפי של לימפוציטים (T או B) המכיר אנטיגן, ולמעשה אפיטופ, ספציפי. תהליך זה נקרא ברירת שבטים.

באיור 7 מודגם תהליך ברירת השבטים של תא B, בעקבות קישורו לאנטיגן מסוים. תא שהקולטן שלו נקשר לאנטיגן ספציפי מתרבה ויוצר שבט שכל תאיו זהים. לאחר מכן, תאים אלו מתמיינים ל**תאי זיכרון** ול**תאי פלסמה** המפרישים את הנוגדנים הספציפיים לאנטיגן.

איור 7:

תהליך ברירת שבטים של תאי B, כתגובה להיקשרות לאנטיגן ספציפי

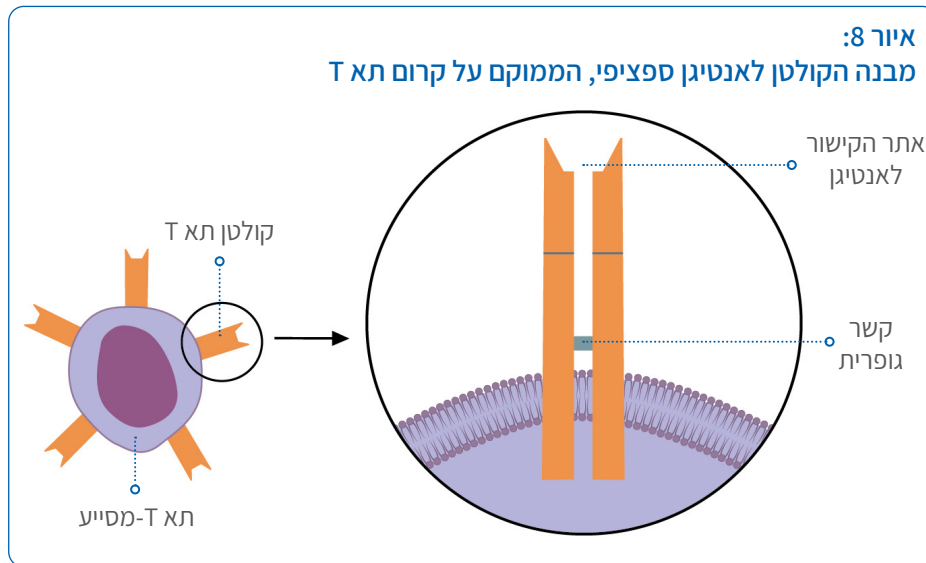


תהליך ברירת שבטים דומה מתרחש גם בתאי T-מסייעים ותאי T-ציטוטוקסיים המבטאים קולטנים הנקשרים לאפיטופ באנטיגן. תהליך זה מתרחש בעקבות היכרות בין קולטן תא T לאפיטופ המוצג על ידי תא מציג אנטיגנים. לאחר חלוקת תאי T ויצירת שבט התאים הספציפי הופך תא T לתא פעיל המפריש מולקולות מסוג **ציטוקינים**. מולקולות אלה מעוררות לפעולה ספציפית כנגד הגורם הזר שחדר הן את תאי B והן תאי T נוספים.

## 1.5 | פעולת תאי T במערכת החיסון הנרכשת

בגוף קיימים באופן טבעי מספר עצום של תאי T, שכל אחד מהם מציג סוג אחד בלבד של קולטן כנגד מרכיב של גורם מחלה אופציונלי. מכאן שתאי T השונים נבדלים בסוג הקולטן שהם מבטאים. פגיעה של מערכת החיסון במרכיבי הגוף עצמו נמנעת על ידי מצב המכונה סבילות חיסונית ובו משותקת התגובה החיסונית כנגד אנטיגן עצמי, ולפיכך היא אינה מתפתחת.

הקולטן של תא T מכיל בקצהו אתר קישור ספציפי לאנטיגן המוצג על פני תאים מציגי אנטיגן (ר' איור 8). לאחר קישור האנטיגן (האפיטופ) עובר תא T המסייע הפעלה ותהליך של ברירת שבטים. תאי T המסייעים שהופעלו מגישים עזרה לתאי T-ציטוטוקסיים ולתאי B שקשרו את האנטיגן הספציפי שלהם, כמתואר בהמשך.



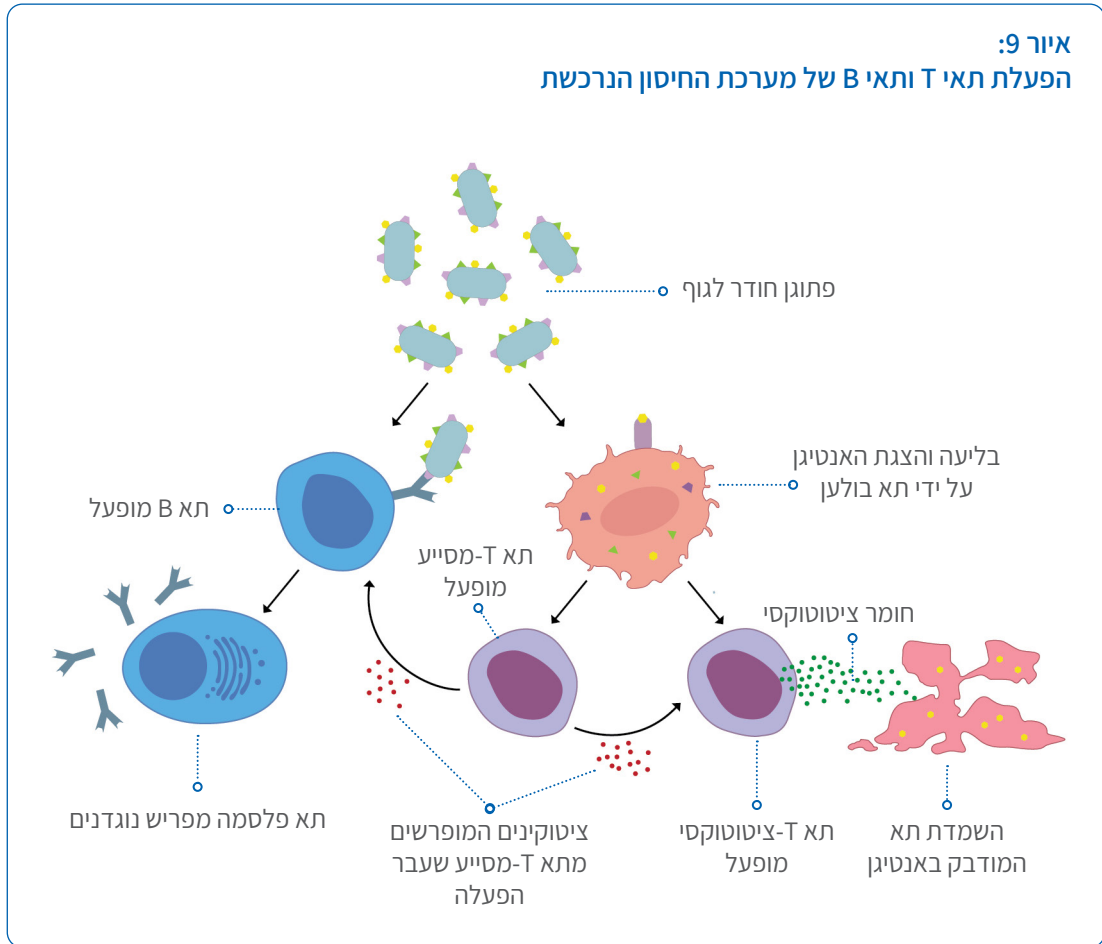
### אופן הפעולה של תאי T-מסייעים

כאמור, קישור הקולטן לאנטיגן מעורר את הפעלתו של תא T-מסייע. בעקבות הפעלתו, מפריש תא T המסייע מולקולות הנקראות ציטוקינים שמטרתן היא הפעלת תאי T-ציטוטוקסיים ותאי B ספציפיים כנגד הפתוגן שעל פניו נמצא אותו אנטיגן. פעולת תאי T הציטוטוקסיים ותאי B תאפשר השמדה של האנטיגן והרחקתו מהגוף. תאי T-מסייעים שהופעלו מבקרים בכך את הפעלת מערכת החיסון הנרכשת (ר' איור 9).

בעקבות הפעלתם, מתרבים תאי T הספציפיים ליצירת שבט של תאים הפועלים יחד להגברת התגובה כנגד אותו אנטיגן. כמו כן ייווצרו משבט זה תאי זיכרון שישמרו בגוף במטרה לפעול בעת חדירה חוזרת של אותו גורם מחלה. תהליך דומה יקרה בתאי B שהופעלו בעקבות חדירת גורם מחלה. ההפעלה החוזרת של תאי הזיכרון והפיכתם לתאים פעילים בשעת הצורך מקנות הגנה מפני חדירה נוספת של הפתוגן ויאפשרו את השמדתו בטרם יופיעו תסמיני מחלה.



איור 9:  
הפעלת תאי T ותאי B של מערכת החיסון הנרכשת



[הדמיית תהליך הפעלתו של תא T-מסייע על ידי אנטיגן זר המוצג באמצעות מאקרופאג.](#)

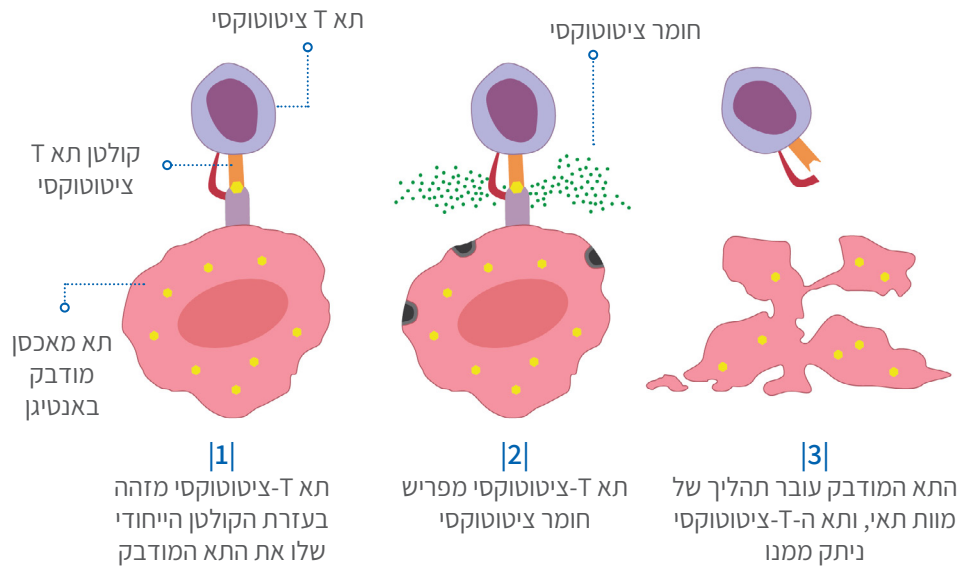


אופן הפעולה של תאי T-ציטוטוקסיים

תאי T הציטוטוקסיים מכירים אף הם את האנטיגן שלהם (אפיטופ) כשהוא מוצג על פני תאים מציגי אנטיגן. כל תא T-ציטוטוקסי מכיר אנטיגן אחד ספציפי באמצעות קולטנים ייחודיים. בעקבות הכרת האנטיגן וקבלת עזרה מתאי T-מסייעים שהפרישו ציטוקינים, תאי T הציטוטוקסיים עוברים אף הם הפעלה. תאי T-ציטוטוקסיים אחראים על השמדת תאים המודבקים בפתוגן שחודר לתוכם, ובעיקר נגיפים, על ידי שחרור מולקולות **חומר ציטוטוקסי**, הגורמות תהליך של מוות תאי מתוכנן – **אפופטוזיס** (Apoptosis; ר' איור 10).

איור 10:

### תא T-ציטוטוקסי מזהה ומשמיד תא מאכסן שהודבק בפתוגן



[פעולתו של תא T-הציטוטוקסי נגד תא מודבק בנגיף](#)

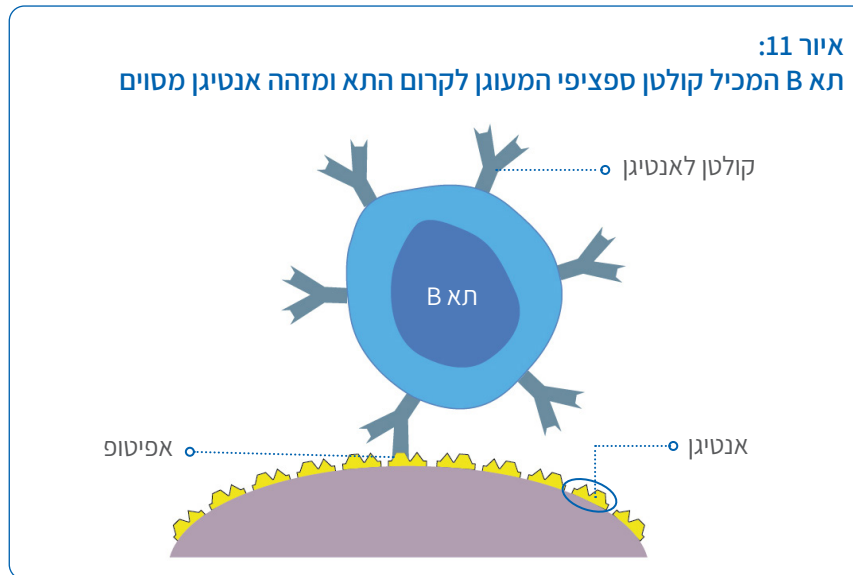


סרטון

## 1.6 | פעולת תאי B במערכת החיסון הנרכשת

### הפעלת תאי B ליצירת נוגדנים ספציפיים:

תאי B הם התאים המופעלים במערכת החיסון הנרכשת ליצירת נוגדנים המופרשים לנוזלי הגוף. בדומה לתאי T, גם תאי B מציגים על קרום התא שלהם קולטן ספציפי לאנטיגן (אפיטופ) מסוים בלבד. קיים בגוף מגוון אדיר של תאים מסוג זה, היכולים לזהות כמעט כל אנטיגן בעל פוטנציאל לחדור לגוף. הקולטן הספציפי המבוטא בתאי B דומה במבנהו למבנה הנוגדן המופרש, אך הוא מעוגן לקרום התא.



הפעלת תא B בעל קולטן מסוים, מכל מגוון תאי B הקיימים בגוף, מתרחשת בעקבות חדירת גורם זר לגוף וקישור מרכיב ספציפי שלו לקולטן המוצג על קרום תא B. הקולטן הספציפי המבוטא על פני תא B קושר ישירות חלק מהאנטיגן (אפיטופ), וכדי לעבור הפעלה, תא B מסתייע בהפרשת ציטוקינים מתאי T-מסייעים, שכבר הכירו את האנטיגן הספציפי.

בעקבות הפעלת תא B על ידי האנטיגן הספציפי, מתרחש תהליך ברירת שבטים, שבמרכזו התרבות של תאי B הספציפיים המגיבים לאותו אנטיגן לכדי שבט תאים ספציפי. בשבט זה, רק התאים המזהים את האנטיגן והנקשרים אליו על ידי הקולטן הספציפי יעברו תהליך ברירה ויתרבו. לעומת זאת, שאר תאי B בגוף – לא יגיבו.

בהמשך ליצירת שבט התאים של תאי B, תאים אלו עוברים תהליכי התמיינות ליצירת שני סוגים של תאים:

- **תאי זיכרון:** תאים הדומים במבנם לתאי B המקוריים, אך הם בעלי יכולות משופרות בזיהוי האנטיגן ובתגובה נגדו. תאי הזיכרון הספציפיים לאותו אנטיגן עשויים להישמר בגוף עשרות שנים, נכונים לתגובה כנגד חדירה חוזרת של האנטיגן הספציפי לגוף.
- **תאי פלסמה:** התפתחות תאים אלה מתאי B הספציפיים כרוכה בהתמיינות תאית הכוללת שינוי מבני ביחס לתאי המקור. תאי הפלסמה גדולים יותר מתאי B, ואינם מבטאים על קרום התא שלהם את הקולטן הספציפי. תאי הפלסמה מפרישים כמות גדולה של נוגדנים ספציפיים כנגד האנטיגן. נוגדנים אלה דומים באופן כללי במבנה שלהם לקולטן הספציפי של תא B, אך הם מתפזרים בנוזלי הלימפה והדם במטרה לזהות את האנטיגן בגוף ולהיקשר אליו. היקשרות הנוגדן לאנטיגן מעכבת את פעילותו על ידי נטרול יכולת היקשרותו לתאי מטרה בגוף, ואף יכולה להפעיל מנגנוני הגנה נוספים כנגד האנטיגן.

## The immune response

הדמיית תהליך היווצרותה של התגובה החיסונית  
הספציפית, באמצעות תאי T ותאי B



### סילוק אנטיגן זר באמצעות נוגדנים

כאמור, הנוגדן הוא חלבון המופרש מתאי הפלסמה ונקשר לאנטיגן. בעקבות קישור הנוגדן לאנטיגן מופעלות כמה מערכות בגוף שמטרתן היא להשמיד את הגורם הזר ולסלקו מהגוף.

הנוגדן הוא חלבון המורכב משתי זרועות קישור לאנטיגן (מקטעי Fab) וממקטע המחבר בין הזרועות (מקטע Fc) (ר' בהרחבה פרק 2 איור 13א). מבנהו הייחודי של הנוגדן מאפשר לו, לאחר היקשרותו לאנטיגן הספציפי, להפעיל מנגנונים במערכת החיסון המאפשרים את סילוקו של האנטיגן מהגוף בשיטות שונות.

### המנגנונים והשיטות לנטרול וסילוק האנטיגן מהגוף לאחר היקשרות הנוגדן לאנטיגן

א. **נטרול ישיר:** שתי זרועותיו של הנוגדן (מקטעי Fab) נקשרות לאנטיגן ישירות ומונעות ממנו היקשרות לתאי הגוף. כך, מאפשר הנוגדן את נטרולו של הפתוגן המכיל את האנטיגן הזר. סוגים רבים של נגיפים ורעלנים זקוקים להיקשרות ספציפית לקולטנים בתאי הגוף כדי לחדור לתאי המטרה שלהם. חסימת אפשרות זאת על ידי הנוגדן מונעת את פעילותם של פתוגנים בגוף.

ב. **הצמחה (אגלוטינציה):** היקשרותו של הנוגדן באמצעות שתי זרועותיו (מקטעי Fab) לשני אנטיגנים המבוטאים על פני שני תאים שונים בעת ובעונה אחת מאפשרת את יצירת התגובה הנקראת **הצמחה**. תגובה זו מתרחשת כנגד פתוגנים, דוגמת חיידקים, המציגים את האנטיגן על פני קרום התא. ככל שהאנטיגן מבוטא מספר רב יותר של פעמים על קרום התא – כך יגבר הסיכוי להתרחשות התגובה ואף תגבר יעילותה. תגובה זו, היוצרת מכלול שמורכב ממספר פרטים רב, מונעת מהפתוגן להיקשר לתאי מטרה וכך בולמת את המשך התפשטותו בגוף. יצירת המכלול אף מקלה על תהליך הפאגוציטוזה המבוצע על ידי מאקרופאגים ונויטרופילים.

## Agglutination reaction

הדמיית תהליך ההצמחה.



ג. **אופסוניזציה:** תהליך של פאגוציטוזה מואצת, הודות ליכולתם של התאים הבולעניים לזהות את מקטע Fc של הנוגדן הקשור לאנטיגן.

## Phagocytosis: Opsonization

הדמיית תהליך האופסוניזציה.



ד. **הפעלת מערכת המשלים:** היקשרות הנוגדן לפתוגנים בעלי האנטיגן הספציפי המוכר על ידי הנוגדן מעוררת בעקבותיה את הפעלת מערכת המשלים. מערכת זו מכילה כמה חלבונים המצויים בדם, ובכלל זה רכיב הנקשר למקטע Fc של הנוגדן. לאחר היקשרותו של הנוגדן לפתוגן, מופעלת שרשרת אירועים של חיתוך חלבוני משנה, המובילה ליצירת חורים בקרום או במעטפת הפתוגן. התוצאה הסופית היא הרס הפתוגן והשמדתו.

ה. **הפעלת מערכת הרג תאית:** מקטעי ה-Fab של הנוגדן נקשרים לאנטיגן המתבטא על פני תאים שהודבקו בנגיף. במצב כזה מקטע Fc של הנוגדן יכול להיקשר לתאים ציטוטוקסיים בעלי קולטן מתאים ולהפעילם להפרשת חומר ציטוטוקסי. בעקבות הפעלתם של התאים הציטוטוקסיים, יתרחש תהליך מוות תאי מתוכנן (אפופטוזיס) של תאי המטרה, וכך יושמדו תאים אלה ועמם יכולת התרבותו של הנגיף שבתוכם.

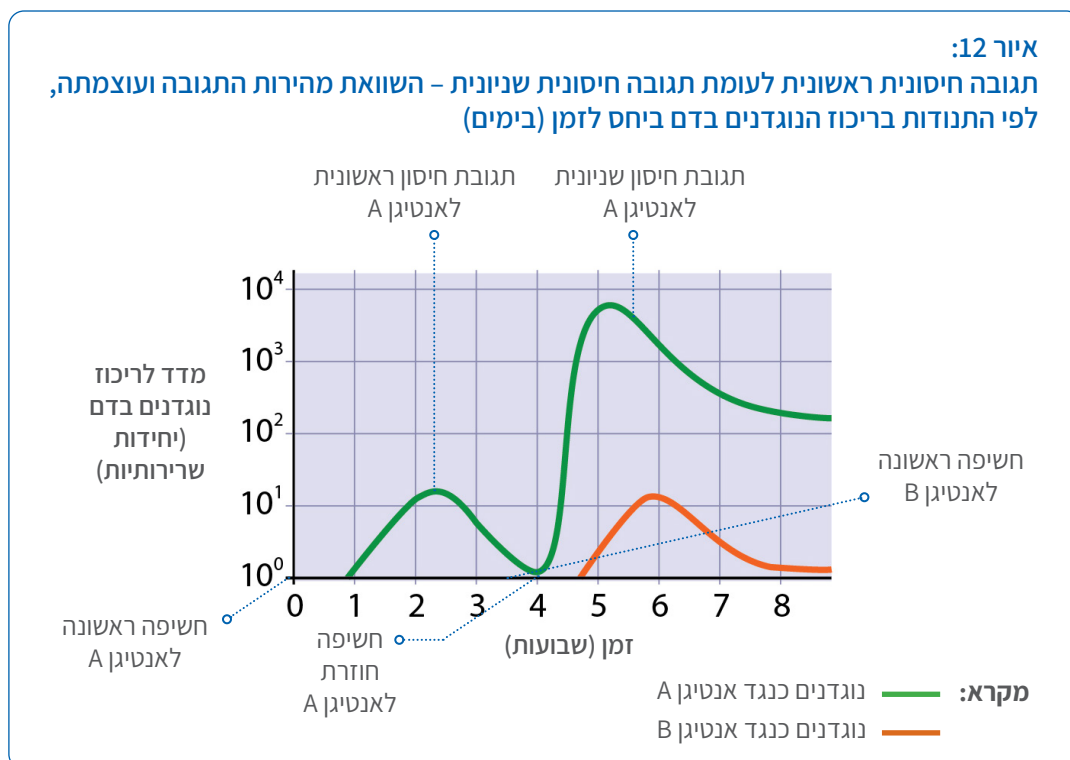
## 1.7 | תגובה חיסונית ראשונית ותגובה חיסונית שניונית, זיכרון חיסוני

**תגובה חיסונית ראשונית:** זיהוי של אנטיגן ספציפי על ידי הלימפוציטים מהסוגים T ו-B - השייכים למערכת החיסון הנרכשת - יעורר חלוקת לימפוציטים ויצירת שבטי תאים בעלי קולטנים הנקשרים באופן ספציפי לאפיטופים באנטיגן המסוים. שבטי תאים אלו יפעלו לסילוקו של האנטיגן מהגוף. עוד במסגרת התגובה הראשונית, מתרחש תהליך התמיינות של אותם תאי T ו-B לתאי זיכרון ספציפיים כנגד האנטיגן. תאי זיכרון אלו מתאפיינים ביכולת היקשרות משופרת לאנטיגן הספציפי, לצד כושר תגובה מהיר במקרה שהאנטיגן יחדור לגוף שוב.

עם סיום התגובה החיסונית הראשונית וסילוק האנטיגן מהגוף, פוחתים בהדרגה ריכוז הלימפוציטים בגוף המגיבים כנגד אותו אנטיגן, וכן ריכוז הנוגדנים בדם הספציפיים לאנטיגן.

**תגובה חיסונית שניונית:** במקרה שהאנטיגן חוזר לגוף שנית, חשיפה של תאי הזיכרון שמבטאים קולטנים ספציפיים לאפיטופים של האנטיגן תחולל יצירת שבטים של תאי לימפוציטים מסוג T ומסוג B ספציפיים לאנטיגן. בעקבות התרחשות זו תתחולל התמיינות מהירה של תאי B, ליצירת תאי הפלסמה המייצרים באופן מוגבר נוגדנים המכוונים כנגד האנטיגן. בדומה, בעת חדירה חוזרת של אנטיגן שכנגדו יש צורך בפעילות של תאי T-ציטוטוקסיים, יופעלו תאי זיכרון T-ציטוטוקסיים במהירות ובעוצמה גבוהה, להקניית הגנה חיסונית מוגברת כנגד האנטיגן.

התגובה החיסונית השניונית היא אפוא מהירה ועוצמתית מהתגובה החיסונית הראשונית: שבטי התאים נוצרים במהירה גבוהה יותר וריכוז הנוגדנים גדול יותר, ליצירת תגובה בעוצמה גבוהה בהשוואה לתגובה הראשונית. עיקרון זה מהווה בסיס ליצירת זיכרון חיסוני: כשהגוף נחשף בפעם הראשונה לאנטיגן ספציפי המעורר בו תגובה חיסונית ושעלול לסכנו בהתפתחות מחלה – מופעלת תגובה חיסונית ראשונית ונוצר זיכרון חיסוני. היחשפות הגוף לאותו אנטיגן שוב תפעיל תגובה חיסונית שניונית עוצמתית, מהירה ומדויקת, הממוקדת באנטיגן הספציפי המוכר למערכת, כך שהסיכון הנשקף מאותו אנטיגן כמחולל מחלה – פוחת.



איור 12 מדגים את ההבדל בין התגובה החיסונית הראשונית לשניונית, על פי מדד ריכוז הנוגדנים בדם, הנוצר בעת התגובה. בחשיפת הגוף לאנטיגן A בפעם הראשונה נוצרת תגובת חיסון ראשונית, המתאפיינת ביצירת

נוגדנים ספציפיים בריכוז הולך וגובר בדם, עד לשיא כעבור שבועיים. לאחר מכן פוחתים ריכוזי הנוגדן הספציפי בדם עד לכדי ריכוז מזערי כעבור כחודש מעת החשיפה הראשונית.

בחשיפה חוזרת לאנטיגן A חלה תגובה חיסונית שניונית. תגובה זו מתבטאת בעלייה מואצת בריכוז הנוגדנים הספציפיים בדם, בתוך ימים אחדים. ריכוז הנוגדנים הגבוה בדם דועך רק כעבור שבועות רבים, ואף חודשים. ואולם, גם אם בד בבד תיחשף מערכת החיסון לאנטיגן מסוג אחר (ר' אנטיגן B, איור 12), הרי שהתגובה החיסונית לאנטיגן זה תהיה ראשונית, בדומה לתגובה החיסונית הראשונית כנגד אנטיגן A. טבלה 1 מרכזת את ההבדלים בין התגובה החיסונית הראשונית לשניונית, בהיבט של יצירת נוגדנים. באופן עקרוני, הבדלים דומים חלים בתגובה החיסונית הראשונה והשניונית של תאי T-מסייעים ותאי T-ציטוטוקסיים.

## טבלה 1:

### סיכום ההבדלים בין מאפייני התגובות החיסוניות – הראשונית בהשוואה לשניונית – המתבטאות ביצירת נוגדנים

תגובה חיסונית		מאפיין התגובה
שניונית	ראשונית	
עד שבוע	שבועיים	משך הזמן מעת היחשפותה של מערכת החיסון לאנטיגן ועד לקבלת שיא בריכוז הנוגדנים
מהיר	איטי	קצב ייצור הנוגדנים
גבוה	נמוך	ריכוז הנוגדנים המרבי
חודשים עד שנים	שבועות אחדים	משך הזמן שהנוגדנים מצויים בדם לאחר התגובה
גבוהה	נמוכה	יעילותה ועוצמתה של תגובת תאי הלימפוציטים המגיבים

**חיסונים פעילים:** תיאורטית, ככל שהגוף נחשף לאנטיגן פעמים רבות יותר, רמת התגובה החיסונית שייצרו תאי הזיכרון תהיה גבוהה יותר. על בסיס עיקרון זה, מוזרקים כיום חיסונים פעילים נגד מבחר גדול של מחלות מסכנות חיים. חיסונים אלו תפקידם להפעיל את התגובה החיסונית, בעקבות היחשפות הגוף לאנטיגן. האנטיגן שבחיסון מוזרק במנות דחף הכוללות את האנטיגן בצורה שבה הוא אינו יכול לגרום למחלה. מנות הדחף ניתנות פעמים אחדות בהפרש של כמה חודשים כדי לייצר תגובה חיסונית ייחודית מועצמת, הנשמרת לאורך זמן בזכות תאי הזיכרון הנותרים במערכת הלימפטית.

פירוט על-אודות החיסונים הפעילים הניתנים כיום מובא בפרק 5: "ריפוי מחלות באמצעות מרכיבי מערכת החיסון ואימונתרפיה".

## שאלות סיכום לפרק 1

### שאלה 1 ?

הסבירו מהו היתרון במבנה מערכת הלימפה המאפשר יצירת תגובה חיסונית יעילה ומואצת, כנגד אנטיגן זר החודר לגוף. התייחסו בתשובתכם למיקום האיברים הלימפתיים בגוף, לקשר למערכת הדם וליכולת המפגש של תאי הדם הלבנים במערכת הלימפה.

### שאלה 2 ?

הסבירו את ההבדל בין המושגים אנטיגן לאפיטופ (או דטרמיננטה אנטיגנית).

### שאלה 3 ?

לפניכם תרשים זרימה המתאר את דרך הפעלת מערכת החיסון הנרכשת על ידי מערכת החיסון המולדת. השלימו את התרשים בעזרת מחסן המשפטים המוצג בצד השאלה:

#### מחסן משפטים

הצגת מקטעי האנטיגן על גבי קרום תא הבולען

הפעלת תאי T-ציטוטוקסיים ותאי B הפועלים לסילוק האנטיגן הזר מהגוף

היקשרות תא T-מסייע לקולטן הייחודי לאנטיגן המוצג

בליעת האנטיגן על ידי תא בולען

הפרשת ציטוקינים על ידי תא T-מסייע

```
graph TD; A[ ] --> B[ ]; B --> C[ ]; C --> D[ ]; D --> E[ ];
```

### שאלה 4 ?

הצגת מקטעי האנטיגן המעוכל על קרום תא הבולען מאפשרת:

- לקשור נוגדנים ייחודיים כנגד האנטיגן
- להפעיל את כל תאי הדם הלבנים כנגד האנטיגן
- להפעיל תאים בולעניים נוספים
- להפעיל את הלימפוציטים הייחודיים כנגד האנטיגן



### שאלה 5 ?

השלימו את הטבלה:

מערכת החיסון הנרכשת	מערכת החיסון המולדת	
		תא מוצא שממנו מתמיינים תאי הדם במערכת
		הסוגים של תאי הדם הלבנים הפועלים במערכת
		שיטת ההשמדה של הגורם הזר
		ספציפיות הזיהוי: גורם עצמי/זר או אנטיגן ייחודי

### שאלה 6 ?

מה המשותף ללימפוציטים מהסוגים B ו-T בפעולתם הייחודית כנגד האנטיגן הזר?

- הפרשת ציטוקינים ייחודיים
- זיהוי האנטיגן על ידי קולטן ייחודי
- הפרשת נוגדנים ייחודיים
- הפרשת מולקולות ציטוטוקסיות ייחודיות

### שאלה 7 ?

תאי T-מסייעים מבקרים את פעולת תאי B ואת תאי T הציטוטוקסיים כנגד האנטיגן הזר באמצעות:

- הפרשת ציטוקינים המווסתים את פעולת תאי-B ותאי T הציטוטוקסיים
- הפרשת נוגדנים ספציפיים
- הפרשת מולקולות ציטוטוקסיות
- בליעת האנטיגן

### ? שאלה 8

- מה ההבדל בין פעולת תאי T-מסייעים לפעולת תאי T-ציטוטוקסיים בהקשר של תגובת מערכת החיסון הנרכשת?
- א. תאי T-מסייעים פועלים ישירות לסילוק האנטיגן, ואילו תאי T-ציטוטוקסיים פועלים בדרך עקיפה.
- ב. תאי T-מסייעים פועלים לסילוק האנטיגן בדרך עקיפה על ידי הפרשת ציטוקינים, ואילו תאי T הציטוטוקסיים פועלים ישירות להשמדת תאים המודבקים באנטיגן בעקבות הפרשת הציטוקינים.
- ג. תאי T-מסייעים מפעילים רק תאי T, ותאי T-ציטוטוקסיים מפעילים הן את תאי T והן את תאי B.
- ד. תאי T-מסייעים נוצרים מתא גזע שונה במח העצם מאשר תאי T-ציטוטוקסיים.

### ? שאלה 9

השלימו את החסר בקטע שלפניכם:

מערכת החיסון הנרכשת פועלת כנגד האנטיגן באמצעות שילוב של תגובה תאית ותגובה הומוראלית. בתגובה התאית פועלים תאי הרג מסוג \_\_\_\_\_, המפרישים \_\_\_\_\_, במטרה להמית תאים המבטאים את \_\_\_\_\_ . לעומת זאת, בתגובה ההומוראלית פועלים תאים מסוג \_\_\_\_\_, המתמיינים לתאי \_\_\_\_\_ המפרישים \_\_\_\_\_, שנקשרים לאנטיגן הזר במטרה לנטרלו מהגוף.

### ? שאלה 10

השלימו את החסר בקטע שלפניכם:

בעקבות ההיקשרות של \_\_\_\_\_ המבוטא על גבי קרום תא B, ל \_\_\_\_\_ מסוים באנטיגן הזר, מופעל תא זה באופן ייחודי, ובעקבות זאת מתחיל תהליך של חלוקה והתמיינות המוביל לברירת שבטים. רק תא B המבטא קולטן הנקשר לאנטיגן יעבור \_\_\_\_\_ . תחילה מתרבים בתהליך זה תאי B, ליצירת \_\_\_\_\_ תאים, שכל התאים בו זהים. לאחר מכן, בתהליך התמיינות נוצרים שני סוגים של תאים: תאי \_\_\_\_\_, שתפקידם להפריש \_\_\_\_\_ ספציפיים לאנטיגן וכן תאי \_\_\_\_\_, שתפקידם להישאר במערכת \_\_\_\_\_ ולהגיב בדרך טובה יותר, בעת חדירה חוזרת של אותו אנטיגן לגוף.

### ? שאלה 11

ברשימת דרכי הפעולה המתווכות על ידי הנוגדן לנטרול האנטיגן הזר ולסילוקו מהגוף, יש שתי דרכי פעולה המתווכות על ידי זרועות Fab של הנוגדן ושלוש דרכים המתווכות על ידי מקטע Fc שלו. פרטו דרכי פעולה אלו, והסבירו את תפקידו של הנוגדן בתהליך.

### שאלה 12 ?

שלושה הבדלים עיקריים מתקיימים בין תאי הזיכרון לתאי הפלסמה המתמיינים מתאי B. בכל אחד משלושת המשפטים שלהלן הקיפו בעיגול את האפשרות הנכונה מבין שתי האפשרויות המוצגות:

א. תאי הפלסמה פועלים גם בעת התגובה החיסונית הראשונית וגם בעת התגובה החיסונית השניונית. לעומתם, תאי הזיכרון מופעלים בפעם הראשונה בעת התגובה החיסונית הראשונית / השניונית.

ב. תאי הפלסמה **מפרישים / אינם מפרישים** נוגדנים; לעומת זאת, תאי הזיכרון **מפרישים / אינם מפרישים** נוגדנים.

ג. תאי הפלסמה **מבטאים / אינם מבטאים** קולטן ייחודי על קרום התא; לעומתם, תאי הזיכרון **מבטאים / אינם מבטאים** קולטן ייחודי על קרום התא.

### שאלה 13 ?

רופאה מעוניינת לבדוק, האם מטופל אכן מחוסן ומוגן מפני נגיף מסוים, שכנגדו חוסן בתקופה האחרונה. לשם כך עליה להפנות את המטופל לבדיקת דם, לצורך בדיקת כמות:

א. הנוגדנים הכללית

ב. תאי B הכללית

ג. הנוגדנים כנגד הנגיף הספציפי

ד. הלימפוציטים הכללית

### שאלה 14 ?

על סמך שלושת התהליכים: תגובה חיסונית ראשונית, תגובה חיסונית שניונית וזיכרון חיסוני, הסבירו מדוע החיסון הפעיל בכמה מנות דחף, בהפרשי זמן של שבועות אחדים, יעיל מאשר מנה אחת של חיסון.

### שאלה 15 ?

ידוע כי נגיף צהבת B עלול לדבק בעת מגע של האדם עם הנגיף דרך מערכת הדם או ריריות גופו. לפיכך, מומלץ כי צוותים רפואיים יחוסנו כנגד הנגיף, אם לא חוסנו אף לא בילדותם. תלמידת כיתה י' המעוניינת להתנדב במד"א הופנתה לבדיקת נוגדנים כנגד הנגיף בדמה. להפתעתה, אף שחוסנה כנגד הנגיף בילדותה, לא נמצאו בבדיקה נוגדנים לנגיף זה בדמה. כיצד אפשר להסביר זאת, וכיצד אפשר לבדוק האם התלמידה מחוסנת?

### שאלה 16 ?

נגיף השפעת נוטה ליצור מוטציות תכופות ולהשתנות במהירות. בהסתמך על עובדה זו, הסבירו מדוע בכל שנה בסתיו ממליץ משרד הבריאות לכלל האוכלוסייה להתחסן כנגד נגיף השפעת לקראת החורף הקרב.

# פרק 2: מבנה הנוגדן והיקשרותו לאנטיגן

## הקדמה

נוגדן הוא חלבון המיוצר ומופרש על ידי תאי פלסמה שהתמיינו מתאי B במהלך התגובה החיסונית. ייעודו של הנוגדן הספציפי שנוצר הוא סילוק אנטיגנים מסוימים מהגוף או נטרולם. כיום, בזכות הבנת מבנה החלבון ופיתוח שיטות ביוטכנולוגיות לייצור מעבדתי בקנה מידה גדול של נוגדנים, משמשים הנוגדנים לצורכי מחקר, אבחון רפואי וטיפול במחלות. פרק 2 שלפניכם עוסק במבנה מולקולת הנוגדן ובתכונות המאפשרות לו זיהוי אנטיגנים ספציפיים, היקשרות אליהם וסילוקם מהגוף.

## 2.1 | מבנה הנוגדן: השרשרת קלה, השרשרת כבדה והקשרים המייצבים

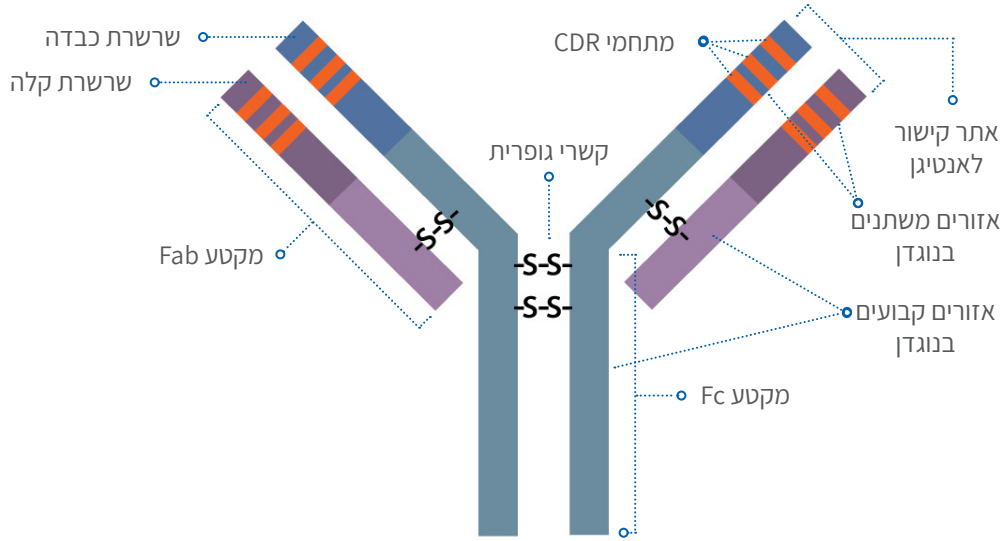
הנוגדן הוא חלבון בעל מבנה רביעוני – מורכב מארבע שרשרות פפטידיות הקשורות ביניהן בקשרים דיסולפידיים (קשרי גופרית), במבנה דמוי האות Y. שרשרות הבונות את החלבון נחלקות לשתי **שרשרות כבדות** (Heavy Chains, HC) זהות, שמשקל כל אחת מהן הוא 50kD, ולשתי **שרשרות קלות** (Light Chains, LC) זהות, שמשקל כל אחת מהן הוא 25kD.

כל שרשרת כוללת **אזורים שמורים** וקבועים, המכילים רצפים של חומצות אמינו המאפיינים נוגדנים בסוגים שונים של אורגניזמים, ו**אזורים משתנים** המכילים רצפי חומצות אמינו היוצרים את אתר הקישור הספציפי של הנוגדן לאנטיגן מסוים (ר' איור 13א).

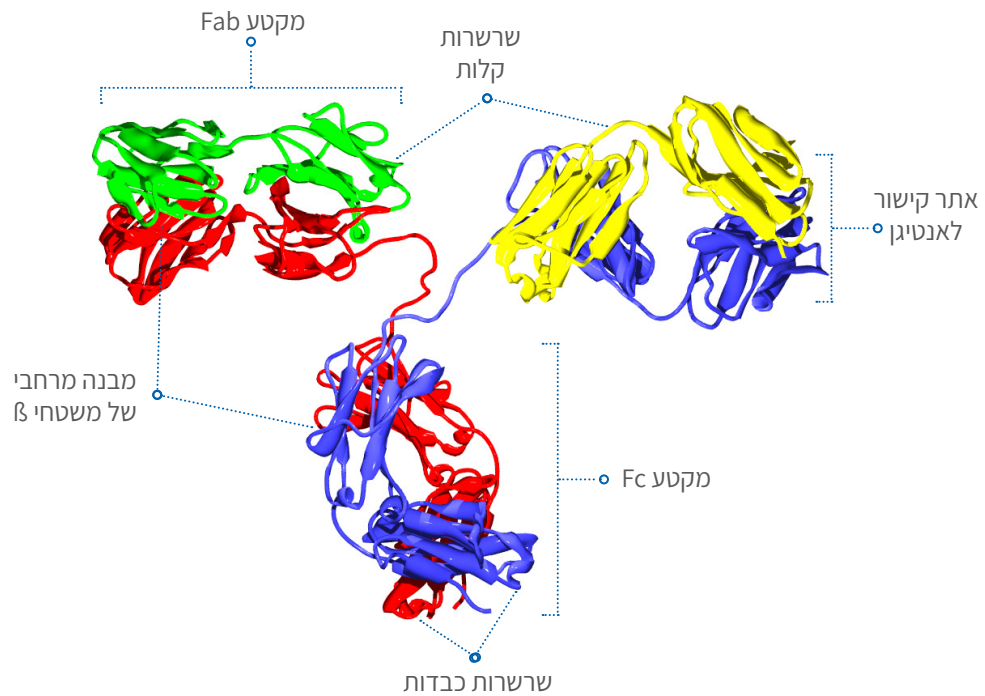
הנוגדן הוא חלבון מסוג **גליקופורוטאין** – בשרשרת הכבדה של חלבון זה מצוי אתר **גליקוזילציה**, שם נקשר לחלבון שייר סוכרי. נוכחות השייר הסוכרי חשובה לקישור הנוגדן למרכיבי מערכות סילוק האנטיגן, כמתואר בסעיף 1.6.

כשמבצעים דנטורציה לנוגדן בנוכחות חומר מחזר, דוגמת **בטא-מרקפטואתנול** ( $\beta$ -Mercaptoethanol), מפורקים קשרי הגופרית ומתקבלות ארבע שרשרות החלבון נפרדות.

**איור 13א:**  
**מבנה הנוגדן**  
**תרשים סכמתי להמחשת מבנה הנוגדן: השרשרות הפפטידיות של החלבון והקשרים ביניהן**



**איור 13ב:**  
**מבנה הנוגדן**  
**הדמיית מבנה תלת-ממדי של הנוגדן ומקטעי**



איור 13ב מציג את המבנה המרחבי של הנוגדן. מבנה זה מאופיין במבנים שניוניים של משטחי β, היוצרים את האזורים השונים בחלבון.

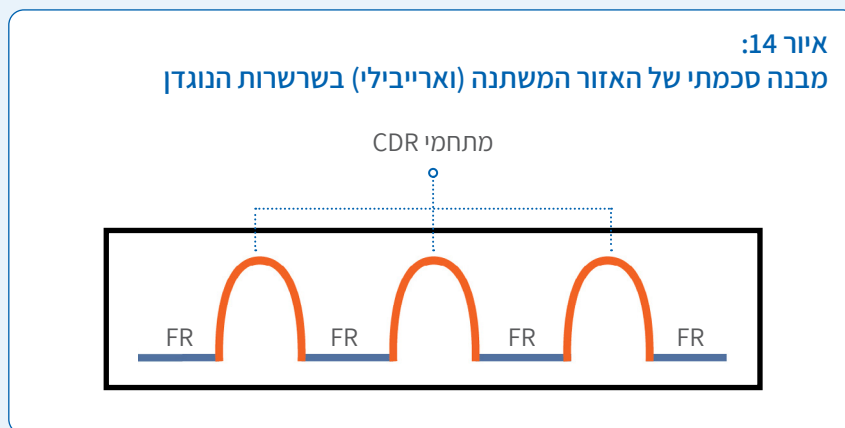
מבנה הנוגדן הנוצר מחיבור ארבע השרשרות הפפטידיות כולל בתוכו כמה מקטעים בעלי מבנה ותפקיד מוגדרים המאפשרים את פעילותו של הנוגדן בתגובה החיסונית הספציפית:

**מקטעי Fab (Fragment antigen binding) – שני מקטעים זהים הנמצאים בשתי "זרועות" הנוגדן, שכל אחד מהם נוצר מחיבור של שרשרת קלה ושרשרת כבדה. מקטעים אלה מכילים אזורים של רצפי חומצות אמינו קבועים או משתנים בכל שרשרת. בקצה המקטע, בכל אחת מהשרשרות, מצויים האזורים המשתנים (וארייביליים – Fv), היוצרים את אתר הקישור הספציפי של הנוגדן לאנטיגן מסוים (ר' איור 14).**

## הזכרה

האזורים המשתנים בתוך מקטעי Fab בנויים אף הם ממתחמים השונים במידת הרב-גוניות שלהם בין נוגדנים שונים:

1. **מתחמי CDR (Complementarity-Determining Regions) – שלושה מתחמים הבנויים כלולאות חלבוניות והאחרים על ההתאמה בין הנוגדן הספציפי לבין האפיטופ הייחודי באנטיגן, שכנגדו מכוון הנוגדן. מידת השוני ברצפי חומצות האמינו במתחמים אלה היא המרבית (Hypervariable Region), שכן זהו הבסיס להתאמה הספציפית בין הנוגדן לאנטיגן, הנבדלת בין נוגדנים שונים במערכת החיסון של אותו אורגניזם (ר' איור 15).**
2. **מתחמי FR (Framework Regions) – ארבעה מתחמים הנמצאים באזור המשתנה של הנוגדן בין מקטעי ה-CDR. אזורים אלו כוללים רצפי חומצות אמינו ייחודיים לכל אורגניזם. לדוגמה, מתחמי FR הייחודיים לנוגדנים בעכברים לעומת מתחמי FR הייחודיים לנוגדנים באדם. מתחמים אלו אינם ספציפיים לנוגדן המזהה אנטיגן מסוים.**

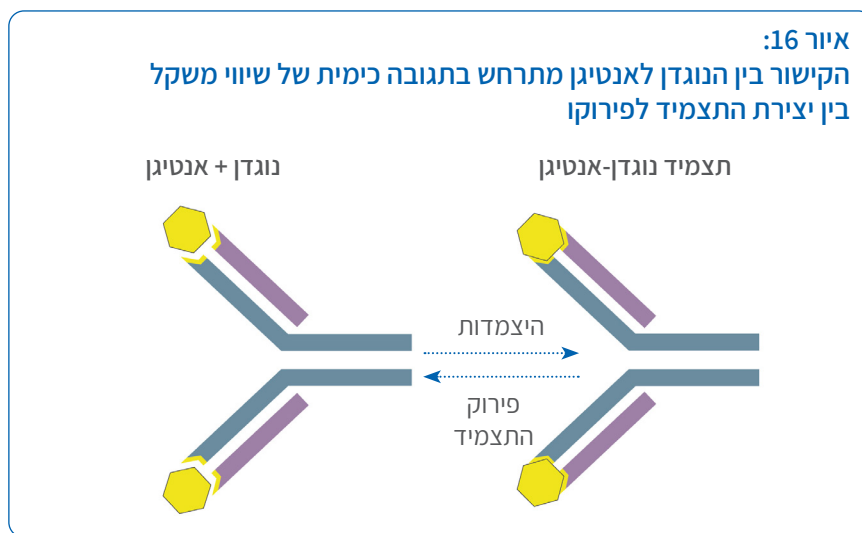
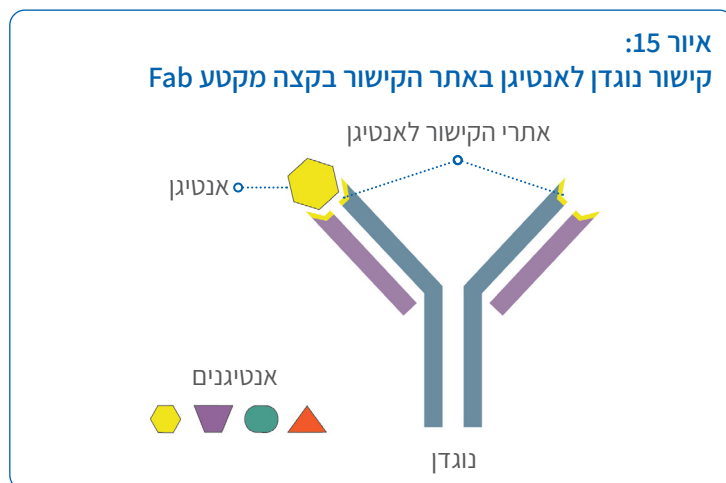


**מקטע Fc (Fragment crystallized region) – מקטע היוצר את "רגל" הנוגדן. נוצר מחיבור של שתי שרשרות כבדות באזורים הקבועים שלהן. אל מקטע זה מחובר שייר סוכרי באתר ספציפי. תפקיד מקטע זה הוא לתווך בין האנטיגן שאליו נקשר הנוגדן לתגובה החיסונית הכוללת את מערכות ההרג וסילוק האנטיגן מהגוף, כמוסבר בסעיף 1.6.**

## 2.2 | יצירת תצמיד נוגדן-אנטיגן וזיקת הקישור

### יצירת תצמיד נוגדן-אנטיגן

קישור הנוגדן לאנטיגן מתבצע על ידי אתר הקישור הממוקם בקצות מקטעי Fab, הבנויים מהאזורים המשתנים בשרשרות הפפטידיות הבונות את החלבון (CDR). אזורים אלו יוצרים מבנה מרחבי ייחודי תואם, הכולל אזורים שקיימת בהם התאמה מבנית וכימית בין הנוגדן לאפיטופ הספציפי שהנוגדן נקשר אליו (ר' איור 15).



איור 16 מדגים את זיקת הקישור ושיווי המשקל בין יצירת התצמיד נוגדן-אנטיגן לבין פירוקו.

**זיקת הקישור** משקפת את עוצמת הקשר בין הנוגדן לאפיטופ שאליו הוא נקשר. זיקת הקישור נקבעת לפי מידת ההתאמה המבנית והכימית בין הנוגדן לאפיטופ, שהוא חלק מהאנטיגן. ככל שההתאמה גבוהה יותר, זיקת הקישור תתבטא בעוצמה גבוהה יותר, ובתגובת שיווי המשקל בין הנוגדן לאנטיגן רוב הזמן הנוגדן והאנטיגן יהיו בתצמיד.

## 2.3 | סוגי הקשרים הכימיים המייצבים את התצמיד נוגדן-אנטיגן

הקישור הכימי בין הנוגדן לאפיטופ התואם מתרחש על ידי הקשרים הנוצרים בין חומצות האמינו – אלה המצויות באתר הקישור של הנוגדן – לבין המולקולות המרכיבות את האפיטופ.

המגע בין הנוגדן לאפיטופ התואם מתאפשר באמצעות סוגי קשרים לא-קוולנטיים: קשרים אלקטרוסטטיים, קשרי מימן, קשרי ואן דר ואלס ואינטראקציות הידרופוביות.

בשיטות מעבדתיות אפשר לפגוע בעוצמת הקשר בין הנוגדן לאנטיגן, על ידי שימוש בתנאי סביבה מסוימים שיש בהם כדי לשבש את הקישור הכימי בין המולקולות. לדוגמה, באמצעות תמיסות בופר (Buffer solutions), שהן תמיסות בעלות רמת חומציות (pH) קיצונית, נמוכה או גבוהה, תמיסות יונים בריכוזים גבוהים וכן ממסים אורגניים הידועים כפוגמים ביצירת הקשרים הכימיים. תמיסות אלו משמשות להסתה של תגובת שיווי המשקל לטובת מצב שהנוגדן מופרד מהאנטיגן, והן מאפשרות ניקוי נוגדנים מתמיסה בעזרת עמודת זיקה המכילה את האנטיגן (ר' סעיף 3.1.2).



## שאלות סיכום לפרק 2

### ? שאלה 17

אתר הקישור של הנוגדן לאנטיגן בנוי מ-:

- א. החלק המשתנה של השרשרת הקלה בלבד
- ב. החלק המשתנה של השרשרת הכבדה בלבד
- ג. החלק המשתנה של השרשרת הקלה ושל השרשרת הכבדה
- ד. החלק הקבוע של השרשרת הקלה בלבד

### ? שאלה 18

נוגדן הוא חלבון מסוג גליקופרוטאין, משום שבחלק Fc שלו:

- א. נוספת מולקולת שומן
- ב. נוספת מולקולת סוכר
- ג. נוסף אטום מתכת
- ד. נוספת מולקולת מתיל ( $\text{CH}_3$ )

### ? שאלה 19

שרשרות הנוגדן נקשרות ביניהן במבנה רביעוני באמצעות:

- א. קשרי גופרית
- ב. קשרי מימן
- ג. אינטראקציות הידרופוביות
- ד. קשרים יוניים

### ? שאלה 20

רצף חומצות האמינו בשלושת מקטעי ה-CDR, בחלק המשתנה של כל נוגדן:

- א. קובע את המשקל המולקולרי של הנוגדן
- ב. זהה בכל הנוגדנים באותו מין של אורגניזמים
- ג. קובע את ההתאמה בין הנוגדן לאנטיגן
- ד. זהה בכל הנוגדנים של אורגניזם מסוים

### ? שאלה 21

רצף חומצות האמינו בארבעת מקטעי FR בחלק המשתנה של הנוגדן:

- א. מאפיין נוגדנים של אורגניזמים שונים
- ב. שונה בין נוגדנים המופרשים מאותו שבט תאים
- ג. שונה בין נוגדנים המופרשים כנגד אותו אנטיגן
- ד. משתנה בהתאם לאנטיגן שהנוגדן נקשר אליו

### ? שאלה 22

**טענה א':** עוצמת הקשר בין הנוגדן לאנטיגן תלויה בהתאמה בין המבנה המרחבי של הנוגדן לבין האפיטופ.

**טענה ב':** עוצמת הקשר בין הנוגדן לאנטיגן תלויה ביכולת הקישור הכימית של הנוגדן לאפיטופ.

- א. רק טענה א' נכונה
- ב. רק טענה ב' נכונה
- ג. שתי הטענות נכונות
- ד. שתי הטענות אינן נכונות

### ? שאלה 23

ככל שנוגדן הוא בעל זיקת קישור גבוהה יותר לאפיטופ, הרי שבתגובת שיווי המשקל בין הנוגדן לאנטיגן יימצא ריכוז **גבוה / נמוך** יותר של הנוגדן בתצמיד עם האנטיגן.

### ? שאלה 24

אפשר להפחית את עוצמת הזיקה בין הנוגדן לאנטיגן, בלי לפגוע במבנה הנוגדן, באמצעות:

- א. הרתחה
- ב. חומרים מחזרים השוברים קשרי גופרית
- ג. תמיסות בעלות רמת חומציות (pH) נמוכה או גבוהה
- ד. ערבול בעוצמה גבוהה

# פרק 3: ייצור נוגדנים בתעשייה – מטרות ושימושים כלליים

## הקדמה

הנוגדנים הם מולקולות חלבון המיוצרות על ידי תאי פלסמה לצורך נטרול גורמים זרים החודרים לגוף, סילוקם והשמדתם. יכולתם של הנוגדנים להיקשר ספציפית לאפיטופ הנמצא באנטיגן מסוים, כמתואר בפרק 2, היא המאפשרת להם לבצע את תפקידם. תכונה זו, לצד יכולתם לגייס גורמים שונים של מערכת החיסון, משמשות כיום רבות לצורכי מחקר, אבחון רפואי וטיפול במחלות, כפי שיוצג בפרקים הבאים. כדי לאפשר שימוש בנוגדנים למגוון מטרות אלה, יש צורך להפיק בקנה מידה מסחרי נוגדנים ייחודיים התואמים אפיטופים שונים, ברמת ניקיון גבוהה, כדי למנוע תגובה שאינה ספציפית דיה או שיבושים בקישור הנוגדן. בתהליך ניקוי זה, מופרד הנוגדן המבוקש מנוגדנים אחרים, אם הם קיימים בתמיסה, וכן מגורמים העלולים לשבש את קישורו הספציפי לאפיטופ. חברות ביוטכנולוגיה רבות עוסקות כיום בייצור מגוון עצום של נוגדנים המשמשים לקשת רחבה של מטרות. בפרק זה יוצגו שיטות נבחרות לייצור נוגדנים המשמשות חברות אלה.

### 3.1 | נוגדנים רב-שבטיים (פוליקלונליים)

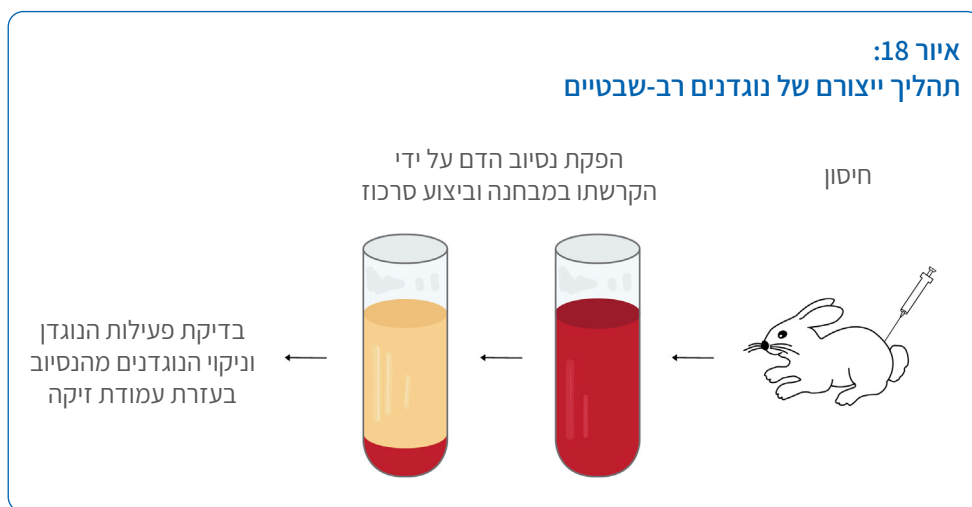
המונח "נוגדנים רב-שבטיים", או פוליקלונליים, הם תערובת של נוגדנים המכוונים כנגד אנטיגן מסוים. הם מצויים בדמו של האורגניזם, חיה או אדם, לאחר שנחשפו לאנטיגן זה לפחות פעם אחת. תערובת נוגדנים זו מוגדרת פוליקלונלית, שכן היא מכילה נוגדנים שונים שנוצרו בחיה כנגד אפיטופים שונים של אותו אנטיגן, על ידי שבטים שונים של תאי B שהופעלו וייצרו תאי פלסמה מפרישי נוגדנים. בתהליך ייצורם, נוגדנים אלו מופקים מנסיוב (סרום) שמקורו בדם של החיה המחוּסנת. נסיוב הוא נוזל הדם לאחר ניקוי מתאי הדם ומגורמי הקרישה.

#### 3.1.1 | ייצור מעבדתי של נוגדנים רב-שבטיים

אפשר להפיק נוגדנים רב-שבטיים בייצור מעבדתי מנסיוב (סרום) של חיה מחוּסנת, דוגמת ארנב, עז, כבשה או חמור. הייצור מורכב מכמה שלבים:



- א. **הכנת האנטיגן:** בשלב הראשון מתבצעת הכנה של האנטיגן לצורך הזרקתו לחיה. ניתן להזריק חלבון שלם, או להכין באופן סינתטי פפטיד קצר של אותו חלבון, הכולל את האפיטופ או האפיטופים, כשהמטרה בסופו של דבר היא שתיווצר בחיה תגובה חיסונית ספציפית הכוללת ייצור נוגדנים שונים כנגד אפיטופים שונים במקטע.
- ב. **חיסון החיה:** החיסון מתבצע על ידי כמה הזרקות במרווחים של שבועות אחדים. זאת, כדי ליצור תגובת חיסון שניונית, שלישונית ואף מעבר לכך, מתוך מטרה להגביר בהדרגה את כמות הנוגדנים המכוונים כנגד האנטיגן בנסיוב החיה.
- ג. **הפקת הנסיוב:** נוזל דם מהחיה המחוסנת לתוך מבחנה. כדי לאפשר הפרדה של הנסיוב מתאי הדם ומגורמי הקרישה, תחילה יש להשרות את הדם שנאסף במבחנה כ-30 דקות. בזמן זה מתבצע תהליך הקרישה. באמצעות סרכז בצנטריפוגה, מפרידים ומשקיעים את תאי הדם וגורמי הקרישה אל תחתית המבחנה, ואילו בחלקה העליון של המבחנה מתקבל נוזל הנסיוב, המכיל את תערובת הנוגדנים שיוצרו בגוף החיה.
- ד. **בדיקת פעילות הנוגדנים:** לאחר שהופק הנסיוב, יש לבדוק כי אכן הוא מכיל את הנוגדנים המבוקשים. בדיקה זו מתבצעת לרוב בשיטת ELISA. פלטת ה-ELISA (פירוט בפרק 4) מצופה באנטיגן המוזרק, ונבדקת יכולתם של הנוגדנים המצויים בנסיוב של החיה המחוסנת להיקשר לאנטיגן המחסן.
- ה. **ניקוי הנוגדנים:** הנסיוב מכיל מגוון רב של נוגדנים כנגד קשת רחבה של אנטיגנים שאליהם נחשפה החיה המחוסנת במהלך חייה. מאחר שמטרת התהליך היא לייצר נוגדן רב-שבטי המכוון כנגד אנטיגן ספציפי, על מגוון האפיטופים שלו – יש להפריד את הנוגדנים הספציפיים לאנטיגן זה מכלל הנוגדנים המצויים בחלבוני הנסיוב.

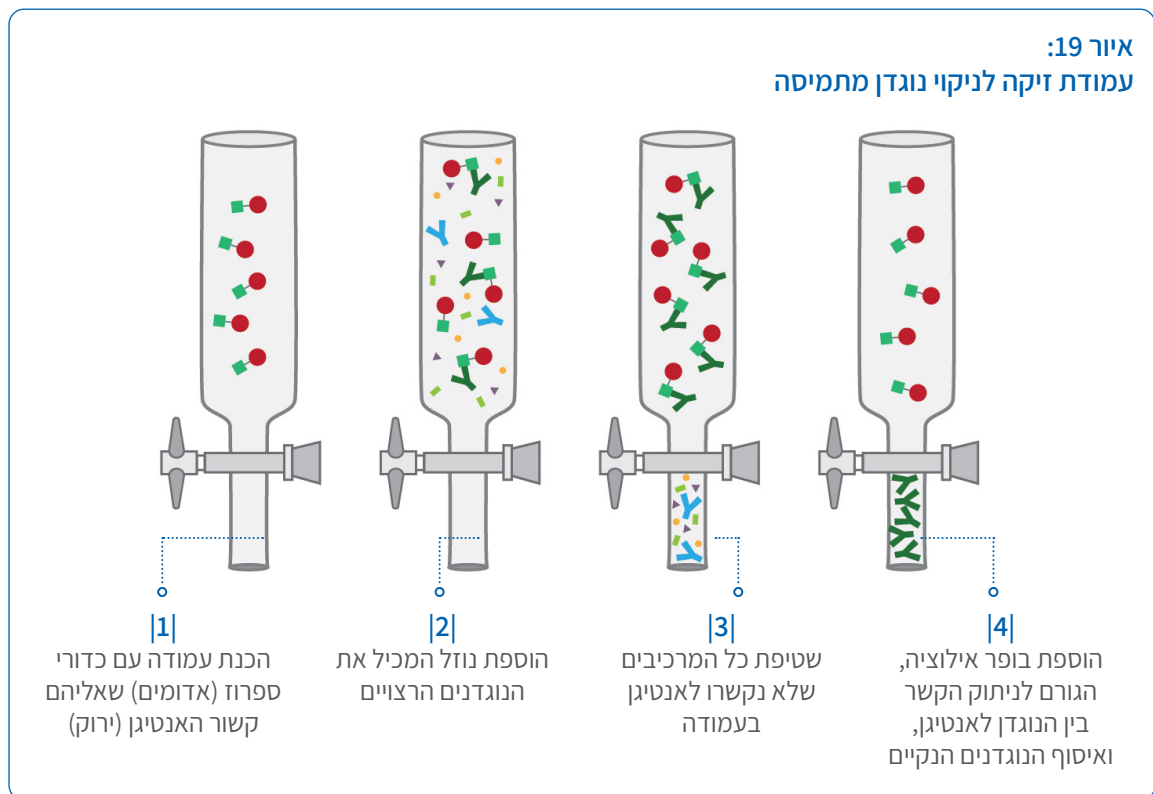


### 3.1.2 | ניקוי והפקה של נוגדנים מנוזל הדם בעזרת עמודת זיקה

יש דרכים אחדות להפרדת הנוגדנים הרלוונטיים כנגד האנטיגן שעמו בוצע החיסון. אחת המועדפות היא עמודת זיקה, הבנויה בצורת מבחנה שלקצה התחתון שלה מחובר ברז. לעמודה מוכנסים כדורי ספרוז (sepharose): כדורים סינתטיים קטנים שאליהם ניתן לקשור מגוון רחב של מולקולות, ובהן אנטיגנים, בקשר קוֹלֵנְטִי. כדי לנקות את הנוגדנים הייחודיים לאנטיגן המבוקש מתמיסת הנסיוב, אפשר לקשור את האנטיגן הספציפי לכדורי הספרוז, כדי שהנוגדנים הייחודיים לאנטיגן זה ייקשרו אליו, וכך תתבצע הפרדה של נוגדנים אלו משאר מרכיבי נסיוב הדם.

שלבי העבודה עם עמודת זיקה לניקוי נוגדנים רב-שבטיים (איור 19):

- א. **מכינים עמודת זיקה:** מוסיפים לעמודה כדורי ספרוז שאליהם קשור האנטיגן הספציפי בקשר קולנטי.
- ב. **מטעינים דגימת נסיוב של החיה המחסנת על עמודת הזיקה:** אל העמודה מוסיפים נסיוב של החיה המחסנת. הנסיוב מכיל מרכיבים רבים, ובכלל זה נוגדנים שאינם מכוונים לאנטיגן המטרה. היות שהאנטיגן הספציפי מבוטא על כדורי הספרוז, ייצמדו אליו הנוגדנים הייחודיים המכירים אותו (נוגדנים המסומנים בירוק באיור 19).
- ג. **מרחיקים את מרכיבי הנסיוב שלא נקשרו לאנטיגן בעמודת הזיקה:** כדי להרחיק מהעמודה את שאר מרכיבי הנסיוב שלא נקשרו לאנטיגן, יש להוסיף בופר שטיפה בעל רמת חומציות (pH) נייטרלית לחלק העליון של עמודת הזיקה, כך שעם פתיחת הברז שבתחתית העמודה, ייצא נוזל המכיל את המרכיבים שלא נקשרו לאנטיגן.
- ד. **אילוציה (שחרור) – הפרדת הנוגדן מהאנטיגן שבעמודת הזיקה:** קישורו של נוגדן לאנטיגן יוצר תצמיד, תוצר של קשרים כימיים בין שני מרכיביו של התצמיד. כדי להפריד את הנוגדן מהאנטיגן יש להחליש את הקשרים הכימיים שנוצרו ביניהם. הפרדה כזו אפשרית באמצעות הוספת בופר בעל רמת חומציות (pH) קיצונית – נמוכה או גבוהה – או תמיסה יונית בעלת ריכוז גבוה. כך משתחרר הנוגדן מהאנטיגן הקשור לעמודה, אך האנטיגן אינו משתחרר מכדורי הספרוז. הנוגדן שהשתחרר נאסף למבחנת איסוף, והתמיסה היוצאת בשלב זה מהעמודה מכילה נוגדן המוגדר "נקי" המועשר בנוגדנים אשר נקשרים לאנטיגן המחסן. תוצר זה אינו מכיל מרכיבי נסיוב נוספים ונוגדנים המכוונים כנגד אנטיגנים אחרים.



### 3.1.3 | אפיון הנוגדנים, יתרונות וחסרונות בשימוש בנוגדנים רב-שבטיים

תערובת הנוגדנים הרב-שבטית נוצרת בחיה המחסנת כנגד אנטיגן המבטא מגוון אפיטופים. תערובת הנוגדנים מכילה נוגדנים שנוצרו כנגד מגוון רחב של אפיטופים שונים. לסוג זה של תוצר שימושים רבים, והוא בעל יתרונות וחסרונות הנובעים מאופן הכנתו ומהעובדה שהוא מכיל תערובת של נוגדנים:

## יתרונות השימוש בנוגדנים רב-שבטיים

- א. קישור למגוון רחב של אפיטופים: תערובת הנוגדנים מכוונת כנגד אפיטופים שונים באותו אנטיגן, ולפיכך מבטיחה סיכוי גבוה לזיהוי של האנטיגן. כמו כן, מכיוון שכמה נוגדנים יכולים להיקשר בעת ובעונה אחת לאותו אנטיגן – וליתר דיוק, לאפיטופים שונים הממוקמים באנטיגן – אפשר להשתמש בתערובת הנוגדנים הרב-שבטיים להגברת זיהוי האנטיגן, לדוגמה בנוגדן שניוני מסומן (ר' הרחבה בפרק 4).
- ב. עלות הייצור: הפקת הנוגדן היא תהליך פשוט למדי, ולכן עלות ייצורו נמוכה יחסית.

## חסרונות השימוש בנוגדנים רב-שבטיים

- א. אין דרך לקבוע בוודאות קיומו של אפיטופ אחד או לכוון אליו טיפול ספציפי: כשמזריקים לבעלי חיים אנטיגן מורכב, כגון נגיף או חיידק, מופעלת מערכת החיסון כנגד אפיטופים שונים על פני האנטיגן, ומתקבל מנעד רחב של נוגדנים. אלא שלצורך בחינת ביטויו של אפיטופ אחד מוגדר – לדוגמה, לצורכי ריפוי או מחקר – הנוגדנים הרב-שבטיים אינם מתאימים.
- ב. אי-אחידות הנוגדנים: תערובת הנוגדנים הרב-שבטיים עשויה להכיל נוגדנים שעקב תהליכי "תגובה צולבת" עם אנטיגנים נוספים המכילים אפיטופים דומים, יביאו לידי תגובה לא-ספציפית בעת השימוש בהם במעבדה.
- ג. חוסר הדירות של הנוגדנים: תערובת הנוגדנים המתקבלת בחיסון עם אנטיגן מסוים בבעל חיים מסוים היא במקרים רבים ייחודית, ואינה ניתנת לשחזור מדויק באמצעות חיסון חוזר של אותו בעל חיים, קל וחומר עם פרטים אחרים מבני מינו, ואפילו בדימומים חוזרים של אותו בעל חיים שחוסן. לכן, שימוש בנוגדנים מסוג זה כתרופה אינו מאפשר בחינת רעילות ואפקטיביות של הטיפול כטיפול תרופתי.
- ד. ייצור נוגדן בבעלי חיים: תהליך ייצורם של נוגדנים רב-שבטיים מסתמך על שימוש נרחב בבעלי חיים. מלבד הבעיות האתיות הכרוכות בשימוש בבעל חיים כ"יצרן", הרי שהנוגדנים המיוצרים ביונקים מזנים שונים אינם זהים במבנם לנוגדני אדם. לפיכך, הזרקה של נוגדן רב-שבטי לאדם תחולל תגובה חיסונית כנגד הנוגדן, ולא תתאפשר הזרקה חוזרת של נוגדנים אלו, לדוגמה כתרופה, שכן הם יגרמו תגובה שניונית כנגד הנוגדנים המוזרקים.

## 3.1.4 | דוגמאות לשימושים בנוגדנים רב-שבטיים

- א. אבחון רפואי: מגוון רב של שיטות לאבחון רפואי – המסתפקות בהכוונה לאנטיגן ולא דווקא לאפיטופ ספציפי – מתבססות על שימוש בנוגדנים רב-שבטיים, ובהן: ELISA, Western blot, FIA, הצמחה, Flow cytometry (לפירוט השיטות ר' פרק 4).
- ב. מחקר רפואי: שיטות מחקר רבות משתמשות בנוגדנים רב-שבטיים, ובהן: ELISA, Western blot, FIA, הצמחה ו-Flow cytometry (לפירוט השיטות ר' פרק 4).
- ג. חיסון סביל: נוגדן רב-שבטי כנגד ארס נחשים שונים מופק מנסויב סוסים שחוסנו בכמויות לא-קטלניות של ארס זה, וניתן לבני אדם לאחר הכשה, כחיסון סביל וחד-פעמי, להצלת חייהם. במקרה זה, הנוגדנים הרב-שבטיים בולטים ביתרונם, שכן הם מכילים נוגדנים הנקשרים לאפיטופים רבים באנטיגן, וכך מאפשרים נטרול מהיר יותר שלו.

## שאלות סיכום לתת-פרק 3.1: נוגדנים רב-שבטיים (פוליקלונליים)

### ? שאלה 25

מספרו את שלבי תהליך יצירתם של נוגדנים רב-שבטיים בגוף האורגניזם מעת כניסתו של גורם זר לגוף:

כניסת האנטיגן הזר לגוף

הפעלת שבטים ייחודיים של תאי T ותאי B

התמיינות שבטים של תאי B לתאי פלסמה המפרישים נוגדנים ייחודיים לאנטיגן לזרם הדם

בליעת האנטיגן על ידי תא בולען

הכרת האנטיגן על ידי קולטנים ספציפיים של תאי T ותאי B

### ? שאלה 26

הסבירו מהו היתרון שבביצוע כמה הזרקות של האנטיגן לאורגניזם המחוסן לצורך הפקת נוגדן רב-שבטי מנסיוב הדם.

### ? שאלה 27

כדי לאבחן אנטיגן ספציפי, חוקרים יעדיפו לעבוד עם נוגדן רב-שבטי שנוקה מנסיוב הדם מאשר עם נסיוב הדם עצמו המכיל את הנוגדן, שכן:

**טענה א':** נסיוב הדם עצמו מכיל ריכוז נמוך יחסית של נוגדן ספציפי בהשוואה לנוגדן המנוקה, מכיוון שתהליך הניקוי מעשיר את ריכוז הנוגדן הספציפי.

**טענה ב':** נסיוב הדם מכיל נוגדנים נוספים שאינם ספציפיים לאנטיגן.

א. רק טענה א' נכונה

ב. רק טענה ב' נכונה

ג. שתי הטענות נכונות

ד. שתי הטענות אינן נכונות

### ? שאלה 28

בתהליך הפקת נוגדן רב-שבטי, היכן יימצאו עיקר הנוגדנים לאחר תהליך קרישת הדם והסרוז במבחנה?

א. בקריש הדם

ב. במשקע שבתחתית המבחנה

ג. בחלק העליון של המבחנה

ד. בכל חלקי המבחנה

### שאלה 29 ?

בעת ביצוע עמודת זיקה לניקוי נוגדן, האם חשוב באיזו תמיסת בופר משתמשים בשלב שטיפת העמודה, ואם כן – איזו מהתמיסות היא המועדפת?

- א. תמיסה בעלת רמת חומציות (pH) קיצונית
- ב. תמיסה בעלת רמת חומציות (pH) נייטרלית
- ג. תמיסה בעלת ריכוז מלחים גבוה
- ד. אין חשיבות לסוג התמיסה בשלב שטיפת העמודה

### שאלה 30 ?

בעת ביצוע עמודת זיקה לניקוי נוגדן, בשלב האילוציה (השחרור) של הנוגדן – רצוי להשתמש בתמיסת בופר בעלת רמת חומציות (pH):

- א. קיצונית – נמוכה או גבוהה
- ב. נייטרלית
- ג. נמוכה בלבד
- ד. גבוהה בלבד

### שאלה 31 ?

בהתייחס לחסרונות השימוש בנוגדנים רב-שבטיים, הסבירו מדוע אין משתמשים בנוגדנים אלה כתרופה לטיפול קבוע באדם. התייחסו בתשובתכם לאופן ייצור הנוגדן ולתגובה החיסונית העלולה להתרחש בגוף.



## 3.2 | נוגדנים חד-שבטיים (מונוקלונליים) עכבריים

חסרונותיהם של הנוגדנים הרב-שבטיים, כמתואר לעיל, האיצו את פיתוחה של שיטה לייצור נוגדנים חד-שבטיים אחידים לחלוטין, בעלי יכולת לזהות אפיטופ יחיד. החוקרים גיאורג קוהלר וצזאר מילשטיין (1975) מאוניברסיטת קיימברידג' היו הראשונים שהציגו שיטה לייצור נוגדנים חד-שבטיים. סיפור פיתוחה של השיטה החל בשנת 1974, כשקוהלר הצטרף לעבודת חקר במעבדתו של מילשטיין באוניברסיטה במסגרת עבודת הפוסט-דוקטורט שלו. במעבדה בחנו שני החוקרים את המגוון והשונות של נוגדנים. הם פיתחו את טכניקת ייצור **תאי היבריזומה** (ר' להלן סעיף 3.2.1), המהווה תשתית לתהליך ייצור הנוגדנים החד-שבטיים. בשנת 1984 הוענק לקוהלר ומילשטיין פרס נובל לרפואה ופיזיולוגיה על פיתוח השיטה שהתבררה כמהפכנית לייצור נוגדנים חד-שבטיים.

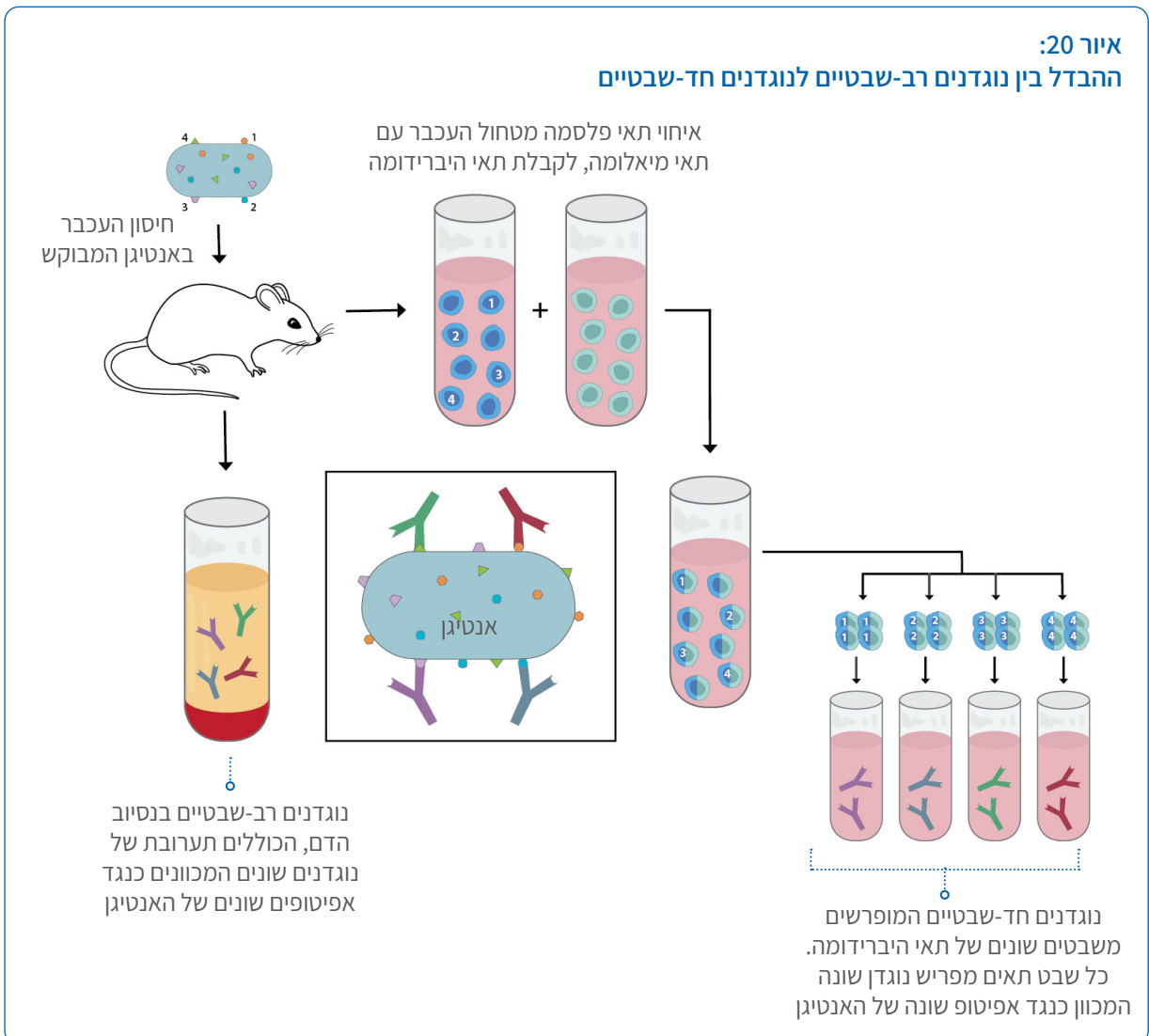
[אתר פרס נובל בפיזיולוגיה או רפואה לשנת 1984](#)  
 הניתן למפתחי שיטת ייצור הנוגדנים החד-שבטיים



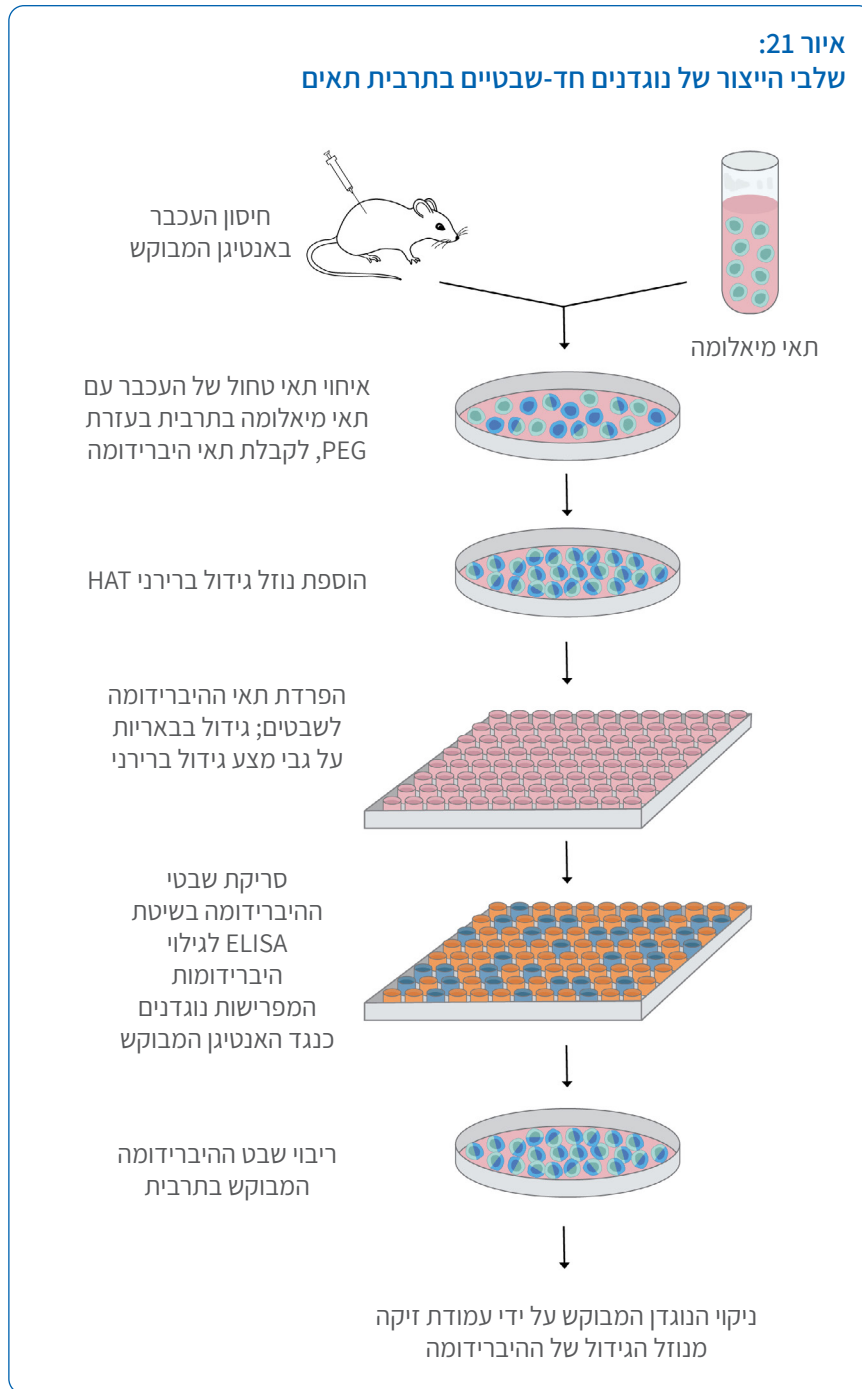
בשונה מהפקת נוגדנים רב-שבטיים מנסיוב חיה, בתהליך ייצורם של נוגדנים חד-שבטיים מייצרים החוקרים תאים הנקראים תאי היבריזומה, ומגדלים אותם במעבדה לצורך הפקת כמות גדולה של נוגדנים זהים משבט של תאי B שייצרו במעבדה (ר' אזור 20).

איור 20:

### ההבדל בין נוגדנים רב-שבטיים לנוגדנים חד-שבטיים



### 3.2.1 | ייצור נוגדנים חד-שבטיים בתרבית תאים



א. **חיסון עכבר כנגד האנטיגן הספציפי:** העכבר מחוסן עם האנטיגן הספציפי, על פי פרוטוקול חיסון שיאפשר קבלת תגובה חיסונית רבת-עוצמה כנגדו.

ב. **איחוי תאי טחול של העכבר עם תאי מיאלומה לקבלת תאי היבריידומה:** תאי הטחול של העכבר, המכילים ריכוז מזערי של תאי פלסמה המפרישים נוגדנים כנגד האנטיגן, מופקים מהעכבר ומאוחים במבחנה עם **תאי מיאלומה** בעזרת החומר הכימי **פוליאיתילן גליקול (PEG)**. תאי מיאלומה אלו הם תאי פלסמה סרטניים של עכבר, המתחלקים ומתרבים במהירות בתרבית תאים במעבדה, כמעט בלי הגבלה. תאי המיאלומה המשמשים בשיטה זו אינם מייצרים נוגדנים עצמאית וכן אינם יכולים להמשיך לחיות בנוכחות נוזל גידול ברירני (סלקטיבי), המכיל חומר הנקרא **HAT**. חוסר היכולת לחיות בנוכחות חומר זה נובע ממוטציה הקיימת בהם, והגורמת מחסור באנזים **HGPRT**, שהוא בעל תפקיד חיוני בייצור נוקלאוטידים בתא.



ד. **סריקה לגילוי שבטים של תאי היברידיזומה המייצרים נוגדנים כנגד האנטיגן שהוזרק:** נוזל הגידול של שבטי היברידיזומות השונים נסרק ובדק במטרה לגלות איזה שבט היברידיזומות מפריש לנוזל הגידול שלו נוגדנים כנגד האנטיגן הספציפי שהוזרק לעכבר. סריקה זו מבוצעת בשיטת ELISA: פלטת ה-ELISA מצופה באותו אנטיגן שהוזרק לעכבר, ובבדקת יכולתם של הנוגדנים המצויים בנוזל הגידול של היברידיזומה להיקשר לאנטיגן.

ה. **ריבוי שבט תאי היברידיזומה המייצר נוגדנים כנגד האנטיגן:** לאחר איתור תאי היברידיזומה המייצרים נוגדנים כנגד האנטיגן הספציפי, מתבצע ריבוי של תאי היברידיזומה אלה לכדי שבט המכיל מספר עצום של תאים. שבט תאים זה יפריש כמויות גדולות של נוגדנים אל נוזל הגידול.

ו. **ניקוי וריכוז הנוגדנים מנוזל גידול היברידיזומה:** נוזל הגידול המכיל נוגדנים יכול לשמש כפי שהוא, כתיסת נוגדן עבור שיטות אבחון רבות. עם זאת, רצוי לבצע תהליך שבו יורחקו מרכיבי מצע הגידול ואף הנוגדן ירוכז בצורה ניכרת. אפשר לבצע תהליך זה באמצעות עמודת זיקה, כפי שתואר ביחס לתהליך ייצורו של הנוגדן הרב-שבטי. בסוף התהליך, יתקבלו נוגדנים חד-שבטיים שמקורם בתאי היברידיזומה יחיד. תא זה יצר שבט תאים שהפרישו את הנוגדן הספציפי. מכאן שכל הנוגדנים שמקורם באותו שבט תאים – זהים במבנם וביכולת הקישור שלהם לאפיטופ הספציפי באנטיגן.

[תהליך ייצורם של נוגדנים חד-שבטיים](#)  
[Monoclonal Antibody Production](#)



### 3.2.2 | אפיון הנוגדנים החד-שבטיים: היתרונות והחסרונות שבשימוש בהם

נוגדנים חד-שבטיים הם נוגדנים המופרשים משבט אחד של תאי היברידיזומה הגדלים בתרבית תאים במעבדה, אם כי אפשר להרבות את תאי היברידיזומה גם בחיה. מאחר שהנוגדנים המתקבלים הם אחידים ומנוקים, ניתן להשתמש בהם כתרופות המהוות חיסון פסיבי. יתר על כן, את הגנים המקודדים לנוגדנים בתאים אלה יש אפשרות להנדס גנטית, הליך שיאפשר ייצור נוגדנים בעלי זיקה גבוהה יותר לאנטיגן או נוגדנים "מאונשים", כפי שיפורט בהמשך.

הנוגדנים החד-שבטיים הם בעלי יתרונות רבים וחשובים, ועל כן הם משמשים כיום למגוון יישומים. באופן פרדוקסלי, החיסרון העיקרי בנוגדנים אלו נובע מאותה תכונה שנחשבה ליתרון – היכולת להיקשר לאפיטופ יחיד באנטיגן. חיסרון זה יתבטא במקרה שהאפיטופ ישתנה עקב מוטציה, או שנדרש קישור לאפיטופים שונים. במקרים אלו אפשר להשתמש בתערובת של כמה סוגים של נוגדנים חד-שבטיים. למטרות מחקר, אם נדרש קישור של הנוגדן לכמה אפיטופים באנטיגן, הרי שחוקרים יעדיפו להשתמש בנוגדן רב-שבטי.

### 3.2.3 | סוגי השימושים בנוגדנים חד-שבטיים

א. **מחקר מדעי ואבחון רפואי:** הנוגדנים החד-שבטיים משמשים הן למחקר מדעי והן למספר רב של שיטות לאבחון רפואי, ובהן: ELISA, Western blot, FIA, הצמתת-ו-Flow cytometry (לפירוט השיטות, ר' פרק 4).

ב. **חיסון סביל:** נוגדנים חד-שבטיים שמקורם בתאי היברידיזומה שהונדסו גנטית עשויים לשמש כטיפול נגד מגוון רחב של מחלות מסכנות חיים, כגון סרטן, מחלות אוטואימוניות ומחלות ניווניות (לפירוט שיטות הטיפול בעזרת נוגדנים, ר' פרק 5).

### 3.2.4 | טבלה 2: השוואה מסכמת בין מאפייני הנוגדנים הרב-שבטיים לחד-שבטיים

סוג הנוגדן		המאפיין להשוואה
חד-שבטי	רב-שבטי	
מנוזל הגידול של תרבית תאי היבריידומה	מנסיוב של חיה שחוסנה	צורת ההפקה של הנוגדן
נוגדן אחיד	תערובת של נוגדנים	הרכב הנוגדן
מכוון כנגד אפיטופ אחד של האנטיגן שהוזרק לחיה	מכוון כנגד אפיטופים אחדים של האנטיגן שהוזרק לחיה	ספציפיות הנוגדן
יתקבל תמיד אותו נוגדן	בכל הזרקה – הן לאותה חיה, והן לפרטים אחרים מאותו מין או ממינים אחרים – תערובת הנוגדנים שונה	הדירות הייצור (reproducibility)
אינה מוגבלת	מוגבלת לריכוז הנסיוב המתקבל מהחיה	יכולת הייצור
מחקר, אבחון רפואי, חיסון סביל	מחקר, אבחון רפואי, חיסון סביל במקרים חריגים בלבד	שימושים

## שאלות סיכום לתת-פרק 3.2: נוגדנים חד-שבטיים (מונוקלונליים) עכבריים

### ? שאלה 32

בתהליך הפקתו של נוגדן חד-שבטי משתמשים בתאי טחול, משום שתאי הטחול:

- א. הם ספציפיים לאנטיגן המוזרק
- ב. מכילים תאי פלסמה המייצרים נוגדנים
- ג. מכילים תאי T-ציטוטוקסיים
- ד. מכילים נוגדנים

### ? שאלה 33

בתהליך הפקתו של נוגדן חד-שבטי יש צורך באיחוי תאי טחול עם תאי מיאלומה, מאחר שתאי הטחול לבדם:

- א. אינם מייצרים נוגדנים
- ב. אינם עמידים למצע HAT
- ג. אינם מסוגלים לשרוד בתרבית לאורך זמן
- ד. אינם מתאחים עם תאי טחול אחרים

### ? שאלה 34

איזו מהאפשרויות מציגה את שני היתרונות העיקריים בשימוש בתאי מיאלומה בתהליך הפקתו של נוגדן חד-שבטי?

- א. תאי מיאלומה אינם מייצרים נוגדנים, ואינם יכולים לשרוד על גבי מצע HAT
- ב. תאי מיאלומה מייצרים נוגדנים, ואינם יכולים לשרוד על גבי מצע HAT
- ג. תאי מיאלומה מייצרים נוגדנים, ויכולים לשרוד על גבי מצע HAT
- ד. תאי מיאלומה אינם מייצרים נוגדנים, ויכולים לשרוד על גבי מצע HAT

### ? שאלה 35

בתהליך הפקתו של נוגדן חד-שבטי, מה תפקידו של שלב הפרדת התאים וגידולם בנפרד בבאריות גידול?

### ? שאלה 36

היברידיזציה היא תא כלאיים המאוחה משני תאים:

- א. תא פלסמה ולימפוציט אחר שמקורו בטחול
- ב. שני תאי מיאלומה
- ג. שני לימפוציטים זהים שמקורם בטחול
- ד. תא מיאלומה ותא פלסמה שמקורו בטחול

### שאלה 37 ?

הסבירו את תפקידו של מצע HAT בתהליך ייצור ההיבריידומה, וכיצד תאי ההיבריידומה שורדים בנוכחותו של המצע.

### שאלה 38 ?

תאי מיאלומה אינם שורדים בתרבית בעלת מצע ברירני HAT, מאחר שתאים אלו:

א. אינם מייצרים נוגדנים

ב. מייצרים נוגדנים

ג. אינם מבטאים את האנזים HGPRT

ד. מבטאים את האנזים HGPRT

### שאלה 39 ?

מהו תפקידו של החומר PEG בתהליך ייצורו של נוגדן חד-שבטי?

א. למנוע איחוי בלתי רצוי בין תאים

ב. להוות גורם ברירני

ג. להגדיל את ייצור הנוגדנים על ידי התאים

ד. ליצור קישור כימי בין קרומי התאים בתהליך האיחוי

### שאלה 40 ?

מספרו את שלבי תהליך ייצורו של הנוגדן החד-שבטי לפי סדר ביצועם:

הפקת תאי טחול וגידול תא מיאלומה

ניקוי הנוגדן מנוזל הגידול של ההיבריידומה

חיסון עכבר באנטיגן x

איחוי התאים ויצירת ההיבריידומות

סריקת ההיבריידומות לגילוי ההיבריידומה ספציפית לאנטיגן x

הפרדת ההיבריידומות לשבטים

### שאלה 41 ?

הסבירו את היתרון בייצור נוגדן חד-שבטי לעומת נוגדן רב-שבטי, מבחינת אחדות התוצר והיקף הייצור של הנוגדן המתקבל. כיצד יכול יתרון זה לשמש בתהליך פיתוחה של תרופה במפעל ביוטכנולוגי?

### שאלה 42 ?

הסבירו מדוע נוגדן חד-שבטי ממקור עכברי אינו יכול לשמש כתרופה הניתנת לאדם.

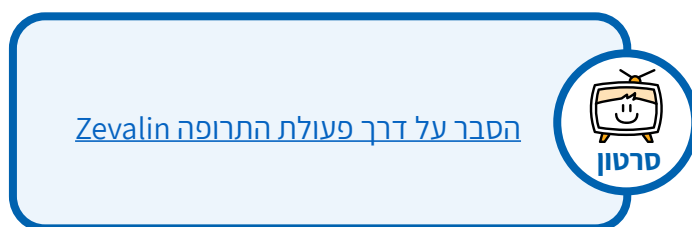
## 3.3 | יצירת נוגדנים מהונדסים גנטית

### 3.3.1 | מטרת יצירתם של נוגדנים מהונדסים גנטית, מאפייניהם ודוגמאות נבחרות

הן הנוגדנים הרב-שבטיים והן החד-שבטיים מופקים בשיטות המסורתיות שפתחו פתח לייצור תעשייתי של נוגדנים עבור קשת רחבה של מטרות. חקר מבנה הנוגדנים והממצאים על אופן פעולתם בגוף שימשו בסיס למסקנה המחקרית, שלפיה אפשר להשתמש בנוגדנים כתרופות המונחות בגוף כנגד אנטיגן מסוים, המהווה חלק במנגנון התפתחותה של מחלה ספציפית (ר' הרחבה בפרק 5).

המגבלה העיקרית בשימוש בנוגדנים המופקים בשיטות המסורתיות כתרופות נובעת מהעובדה שמקור הנוגדן הוא בחיה, ולפיכך הזרקתו לגוף האדם תביא בהכרח לידי תגובה חיסונית כנגד האזורים הקבועים בנוגדן, ולסילוקו מהגוף.

שימוש טיפולי בנוגדנים חד-שבטיים עכבריים אושר פעם אחת בלבד, בשנת 2002, בנוגדן זווילין (Zevalin). לנוגדן זה חובר חומר רדיואקטיבי למטרת טיפול בלימפומה. הנוגדן ממקור עכברי ניתן חד-פעמית, ולכן הייתה אפשרות להשתמש בו כתרופה, בלא חשש מתגובה חיסונית כנגד הנוגדן. ואולם תרופה זו לא הראתה יעילות רבה בטיפול.



כמו כן נמצא כי המנגנונים לסילוקו של האנטיגן מהגוף, המופעלים, לדוגמה, על ידי היקשרות חלק Fc של הנוגדן לתאים בולעניים, לא יפעלו כל עוד אין התאמה בין סוג החיה שהנוגדן הופק ממנה לבין סוג החיה המקבלת את הנוגדן. כך, נוגדנים המיוצרים בבעלי חיים לא יפעילו את המנגנונים לסילוק האנטיגן באדם.

כדי להתגבר על בעיות אלו ולשפר את פעולת הנוגדנים פותחו **נוגדנים מהונדסים** (המיוצרים בשיטות של הנדסה גנטית). הנוגדנים המהונדסים אפשרו:

1. יצירת נוגדנים בעלי מבנה חדש, לפי הצורך.
2. שיפור נוגדנים קיימים, במטרה ליצור תרופה בעלת יעילות משופרת.
3. פיתוח היישומים האפשריים מנוגדן קיים. לדוגמה, הרחבת אפשרויות הטיפול על ידי שימוש בנוגדנים הקושרים תרופות, כאשר הנוגדן מנחה את התרופה אל תאי המטרה בגוף.

להלן דוגמאות לנוגדנים מהונדסים המשמשים כיום:

א. **נוגדנים משופרים**: שיפור פעולת הנוגדן באמצעות שינוי נקודתי ברצפי הגנים המקודדים לו. לדוגמה, שינוי האזור המשתנה בנוגדן מאפשר ליצור נוגדנים משופרים בעלי זיקה גבוהה במיוחד לאנטיגן מסוים, או בעלי פעילות ספציפית, כגון נטרול המרכיב שעליו מבוססת פעולת האנטיגן. יתרה מכך, התברר כי שינוי ברצף החלבון באזור Fc של הנוגדן עשוי להגביר את פעולתן של המערכות לסילוק אנטיגנים מהגוף, שכן הן מופעלות באמצעות אזור זה.

ב. **נוגדני כלאיים (כימריים) ונוגדנים "מאונשים" (Humanized)**: נוגדנים אלו מבוטאים מגן כלאיים – הכלאה בין גן אנושי לגן עכברי. רצפי הגנים האנושיים מקודדים בעיקר לאזורים הקבועים בנוגדן האנושי, והרצפים המקודדים לאזור המשתנה בנוגדן – האחראים לזיהוי האפיטופ – מקורם בעיקר מעכבר. ייצור נוגדן מסוג זה נועד למנוע את התגובה החיסונית כנגדו, במתן שלו כתרופה לאדם (ר' איור 23).




ג. **נוגדנים חד-שרשרתיים:** אלו נוגדנים השונים במבנם מהנוגדן הטבעי, המורכב מארבע שרשרות פפטידים. הנוגדנים החד-שרשרתיים הם בעלי ממדים קטנים יותר, המאפשרים להם גישה נרחבת יותר לאיברים בגוף, כגון המוח, וכן חיבור כמה אתרי קישור של נוגדנים לאנטיגנים שונים, וכך – הגדלת תחום פעילותם.

תרופות המבוססות על נוגדנים חד-שבטיים המהונדסים במבחר שיטות הן כיום בעלות נתח שוק נכבד, ששווי נאמד בעשרות מיליארדי דולרים בשנה. תרופות בהיקף נרחב המבוססות על נוגדנים אלו אושרו לשימוש בשנים האחרונות, וצפוי כי תרופות נוספות יאושרו לשימוש בשנים הקרובות.

דיון מורחב בשימוש בנוגדנים למטרות טיפוליות יובא בפרק 5.

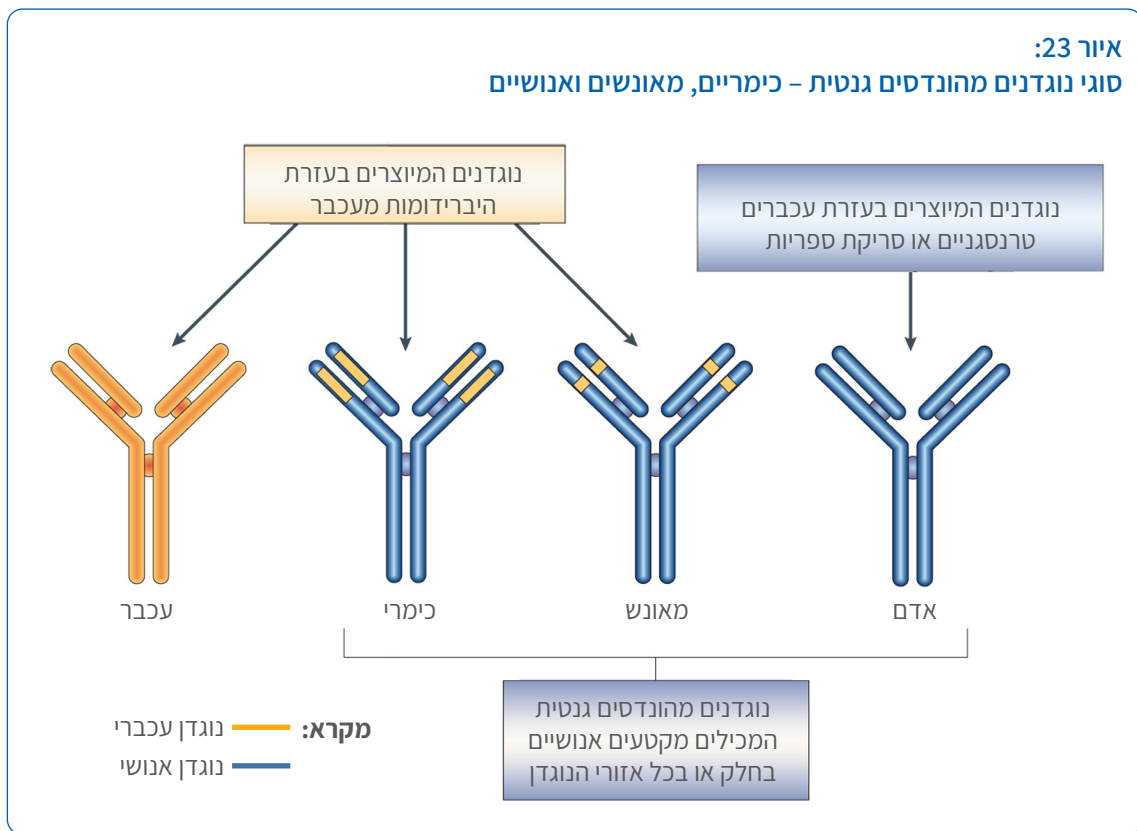
מאמר להרחבה:

[תחזית היקף השימוש בנוגדנים חד-שבטיים מהונדסים מסוגים שונים על ידי מוסדות רפואיים ומוסדות מחקר בשנים 2013-2024.](#)



### 3.3.2 | נוגדני כלאיים (כימריים) עכבר-אדם, נוגדנים מאנושים ונוגדנים אנושיים מהונדסים

**נוגדני כלאיים (Chimeric Antibodies)** עכבר-אדם **ונוגדנים מאנושים (Humanized Antibodies)** פותחו על בסיס נוגדן חד-שבטי עכברי, והם בעלי מבנה נוגדן שלם, המורכב מארבע שרשרות. נוסף על כך פותחו נוגדנים אנושיים מהונדסים בעלי מבנה דומה, המכילים 100% רצפים אנושיים. איור 23 מדגים את מבנה הנוגדנים המהונדסים גנטית.



## נוגדן כימרי

נוגדן שהוא לרוב תוצר כלאיים של נוגדני אדם ועכבר, המשלב את הגן המקודד לאזור המשתנה שאחראי על זיהוי האנטיגן – אזור שמקורו בנוגדן חד-שבטי, לדוגמה עכברי – עם רצפים גנטיים המקודדים לאזורים הקבועים בנוגדן אנושי. כ-31% מכלל הנוגדן הכימרי המתקבל בשיטה זו של הנדסה גנטית הוא עכברי.

## נוגדן מאונש

במטרה להקטין עוד יותר את חלקם של רצפי הגנים העכבריים בנוגדן המהונדס, פותח הנוגדן המאונש – הכלאה של הגן המקודד לאתר הקישור לאפיטופ בנוגדן חד-שבטי עכברי עם הגן לנוגדן אנושי. בשונה מהנוגדן הכימרי, בנוגדן המאונש נוטלים מהגן העכברי רק את מתחמי ה-CDR, שהם האזורים הספציפיים המכילים את רצף חומצות האמינו היוצר את ההתאמה בין הנוגדן לאפיטופ הספציפי באנטיגן שאליו מכוון אותו נוגדן. שאר רצפי האזור המשתנה בנוגדן (אזורי FR) וכן הרצפים המקודדים לאזורים הקבועים בנוגדן משמשים לייצור נוגדן זה מגן אנושי. בשיטה זו של הנדסה גנטית אפשר ליצור נוגדן שרק כ-11% מכלל החלבון בו מקורו בגן עכברי.

## נוגדן אנושי מהונדס

נוגדן המכיל 100% של רצפים אנושיים, המיוצר בשיטות של הנדסה גנטית. נוגדן זה יכול להיות מפותח על בסיס נוגדן חד-שבטי עכברי או בעזרת שיטות נוספות, כמפורט בהמשך.

## יתרונותיהם וחסרונותיהם של הנוגדנים הכימריים, המאונשים והאנושיים

ייצור נוגדנים כימריים בעלי רצפים קבועים אנושיים אפשר שימוש בנוגדנים למטרות טיפוליות רבות, כמפורט בפרק 5 שלהלן. נוגדנים אלו מכילים רצפים ספציפיים לאנטיגן המבוקש, תכונה שהושגה על ידי ייצור נוגדן חד-שבטי עכברי, אך מאחר שכל שאר המבנה שלהם מבוסס על נוגדני אדם, הם יוצרים תגובה חיסונית מזערית כנגדם, אם בכלל, בעת הזרקתם לגוף האדם. לעומתם, נוגדנים אנושיים לא יובילו במרבית המקרים ליצירת תגובה חיסונית כלל. מחקרים הראו כי הרצפים המשתנים כמעט שאינם יוצרים תגובה חיסונית כנגדם, ולכן אף שהנוגדן מכיל רצפי חלבון עכבריים, הרי שתגובות חיסוניות כמעט שאינן נוצרות כנגדו כלל. כמו כן נוגדנים בעלי רצפים אנושיים באזורים הקבועים של הנוגדן יכולים להפעיל בגוף את מערכות ההרג וסילוק האנטיגן שמפעיל נוגדן אנושי.

## טבלה 3:

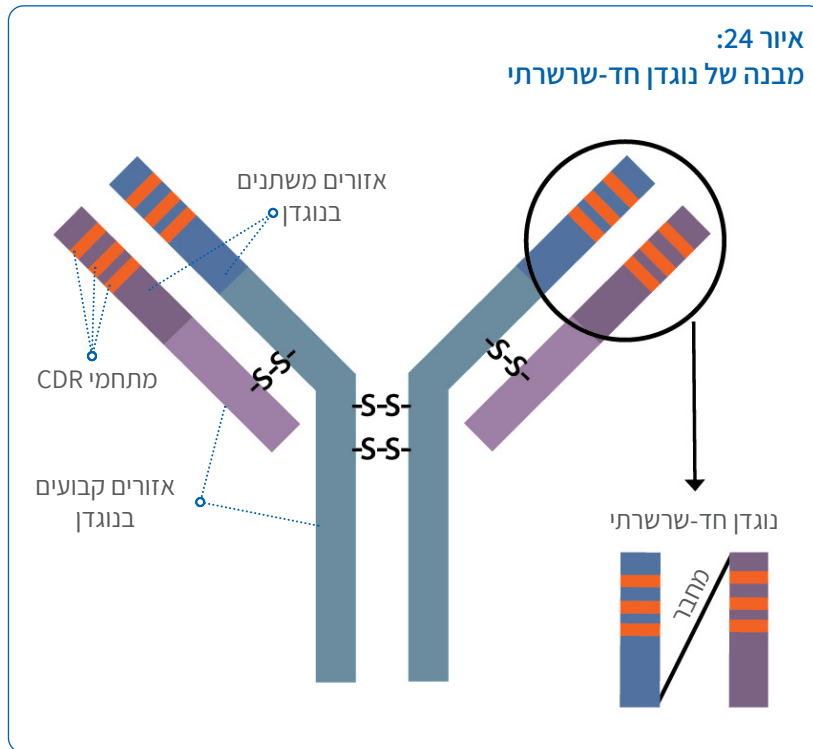
### נוגדנים חד-שבטיים מהונדסים נבחרים (כימריים, מאונשים או אנושיים) שאושרו לטיפול בסוגי סרטן מוגדרים

שם הנוגדן	סוג הנוגדן	אנטיגן המטרה שאליו מכוון הנוגדן	סוג מחלת הסרטן המטופלת בעזרת הנוגדן
Rituximab	כימרי	CD20	לימפומה
Trastuzumab	מאונש	ErbB2	סרטן השד
Bevacizumab	מאונש	VEGF	סרטן המעי הגס
Alemtuzumab	מאונש	CD52	לוקמיה
Cetuximab	כימרי	EGFR	סרטן המעי הגס
Panitumumab	אנושי	EGFR	סרטן המעי הגס

למרות ההצלחה בהפחתת התגובה החיסונית בשימוש בנוגדנים מהונדסים, כימריים או מאונשים, כתרופות, השאיפה בתחומי המחקר והפיתוח היא לעבור יותר ויותר לייצור נוגדנים אנושיים לחלוטין.

### 3.3.3 | נוגדנים חד-שרשרתיים: מבנה, יתרונות וחסרונות

ההנדסה הגנטית אפשרה לפתח ולייצר נוגדנים שאינם בעלי מבנה הנוגדן הקלאסי והטבעי, כפי שתואר בפרקים הקודמים, אלא בעלי מגוון של גדלים ומבנים מרחביים, שהמכנה המשותף שלהם הוא שימוש ביכולת ההיקשרות הספציפית לאנטיגן. אחת מצורות הנוגדנים המהונדסים הנפוצה כיום ומשמשת רבות גם למטרות טיפוליות היא הנוגדן החד-שרשרתי - scFv (single-chain variable fragment antibody). כדי ליצור נוגדן זה לוקטו הרצפים המקודדים של המתחמים המשתנים בשרשרת הקלה ובשרשרת הכבדה בזרוע Fab (CDR) וחוברו ביניהם בעזרת רצף המקודד לפפטיד קצר המשמש כמחבר (linker). הגן המקודד לנוגדן זה יוצר שרשרת חלבונית אחת המתקפלת למבנה מרחבי הזהה לזה של אתר הקישור לאנטיגן, הנמצא בקצה זרוע Fab של הנוגדן. כך מתאפשרת העתקת יכולת היקשרותו של הנוגדן הרגיל, אך במבנה מצומצם וקומפקטי יותר.



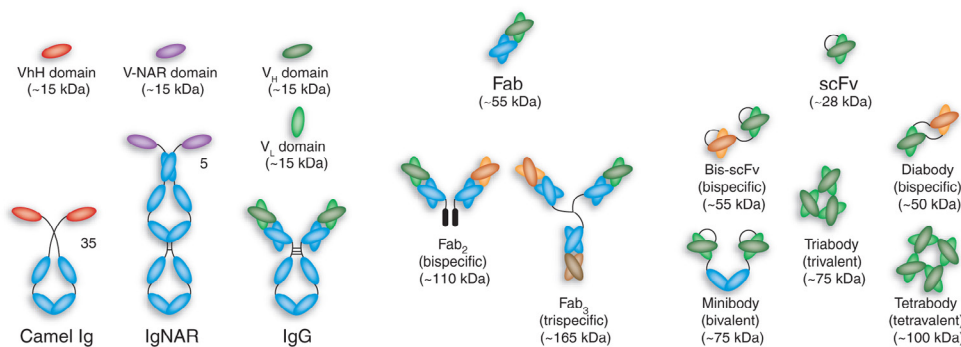
לנוגדן החד-שרשרתי יתרונות חשובים: הוא נקשר לאנטיגן בזיקה גבוהה, ויתרה מכך – מכיוון שמולקולת החלבון של הנוגדן החד-שרשרתי היא קטנה יחסית ובעלת מבנה פשוט יחסית, שאינו דורש שינויים רבים לאחר תרגומה, כגון יצירת קשרי גופרית וגליקוזילציה, אפשר לבטא את הנוגדן בקלות ולייצרו בחיידקים. כך גם מוזלת עד מאוד עלות ייצורו. יתרון נוסף הנובע מממדיו הקטנים של הנוגדן החד-שרשרתי מתבטא ביכולתו לחדור כתרופה למגוון רקמות בגוף, לרבות גידולים סרטניים וכן מחסום דם-מוח לטיפול במחלות מערכת העצבים המרכזית. נוגדן זה אף מסוגל לשאת עמו מגוון של תרופות מונחות, כגון כימותרפיה, המחברות אליו במחבר, להגברת השפעתן.

ואולם חרף היתרונות הרבים הגלומים בשימוש בנוגדן זה, חשוב לזכור כי אין ביכולתו להפעיל את מערכות ההמתה והסילוק של אנטיגנים מהגוף, שכן הוא אינו כולל את מקטע Fc האחראי בנוגדן הטבעי על הפעלתן של מערכות אלה.

נוסף על הנוגדן בעל המבנה החד-שרשרתי, כיום באמצעות הנדסה גנטית אפשר ליצור מגוון רחב של נוגדנים מהונדסים השונים במבנה המולקולה שלהם מהנוגדן הטבעי בעל ארבע השרשרות. לדוגמה, אפשר לחבר לאותה מולקולה כמה נוגדנים חד-שרשרתיים המזהים אפיוטופים שונים, או להשתמש בנוגדנים שמקטעיהם חוברו בסדר שונה מזה שבנוגדן הטבעי. איור 25 מציג דוגמאות לנוגדנים כאלו.

איור 25:

דוגמאות נוספות ליצירת נוגדן מהונדס, רקומביננטי, בעל מבנה שונה מזה של נוגדן טבעי



Schematic representation of different antibody formats, showing intact 'classic' IgG molecules alongside camelid VhH-Ig (camelid antibody VH heavy chain) and shark Ig-NAR (Ig-New Antigen Receptor immunoglobulins). Camelid VhH-Ig and shark Ig-NARs are unusual immunoglobulin-like structures comprising a homodimeric pair of two chains of V-like and C-like domains (neither has a light chain), in which the displayed V domains bind target independently. Shark Ig-NARs comprise a homodimer of one variable domain (V-NAR) and five C-like constant domains (C-NAR). A variety of antibody fragments are depicted, including Fab, scFv, single-domain VH, VhH and V-NAR and multimeric formats, such as minibodies, bis-scFv, diabodies, triabodies, tetrabodies and chemically conjugated Fab' multimers (sizes given in kilodaltons are approximate).

### 3.3.4 | יצירת נוגדנים מהונדסים מתאי חיידקים ומתאים אאוקריוטיים

הפקת נוגדנים מהונדסים – שהם למעשה חלבונים רקומביננטיים המתבטאים מגן מהונדס – מאפשרת לבטא גנים מהונדסים אלה בתאים שאינם תאי פלסמה המייצרים נוגדנים באופן טבעי. להלן יידונו היתרונות והחסרונות של כל אחד מסוגי התרבויות להפקת נוגדנים.

#### ביטוי נוגדנים בחיידקי אשריכיה קולי (Escherichia coli)

בשל גידולם המהיר ועלותם הנמוכה, חיידקי E. Coli מהווים כיום מערכת תאית רווחת מאוד להפקת חלבונים רקומביננטיים. אלא שתהליכי קיפול החלבון ויצירת קשרי הגופרית שונים בתאי יונקים לעומת חיידקים, וכן בחיידקים תהליך הגליקוזילציה לחלבונים אינו מתקיים. בהקשר זה חשוב לזכור כי הגליקוזילציה של הנוגדן חשובה לפעילותו, וכיוון שאינה חלה בחיידקים המשמשים להפקת נוגדנים, הרי שיש בעייתיות בביטוי נוגדנים בתאים אלו. על המגבלות הללו אפשר להתגבר חלקית, לדוגמה על ידי שימוש בחיידקים המבטאים בנפרד את השרשרת הקלה ואת השרשרת הכבדה, וקשירתן לאחר מכן בשיטות שונות. עם זאת, הנוגדן השלם הנוצר בשיטה זו בחיידקים לא יכול אתרי גליקוזילציה, ולפיכך לא יהיה יעיל בהפעלת מערכות ההמתה והסילוק. לעומת זאת, ניתן לבטא בקלות בחיידקים נוגדנים חד-שרשרתיים, בזכות המבנה הפשוט של נוגדן זה, הבנוי משרשרת חלבון אחת שאינה עוברת גליקוזילציה.

#### ביטוי נוגדנים בתאים אאוקריוטיים

לתאים אאוקריוטיים שונים יש מערכת גליקוזילציה, ולכן הם מתאימים לייצור נוגדנים. נוגדנים ניתנים לייצור במבחר מערכות של תרבויות תאים, לרבות תאי שמרים ותאי צמחים, שבהם מתרחש תהליך דומה לזה המתרחש ביונקים – קיפול וגליקוזילציה של חלבונים. תרבית תאי יונקים, המקובלת מאוד לייצור נוגדנים בתפוקה בקנה מידה גדול מאוד ובצורה הזזה לנוגדנים המיוצרים על ידי תאי פלסמה, היא תרבית **קו תאים רציף** מתאי שחלה של אוגר סיני (Chinese Hamster Ovary, CHO) – שעברו התמרה סרטנית המאפשרת להם לחיות ולהתחלק בלי סוף.

## שאלות סיכום לתת-פרק 3.3: יצירת נוגדנים מהונדסים גנטית

### ? שאלה 43

אילו ארבעה יתרונות ניתן לייחס לתרופה שמקורה בנוגדנים מהונדסים גנטית, בהשוואה לתרופה שמקורה בנוגדן עכברי?

### ? שאלה 44

לא מכבר פותח נוגדן מהונדס כנגד נגיף האבולה, הנחשב קטלני במיוחד. הנוגדן נועד להוות חיסון סביל עבור הנדבקים בנגיף. החיסון כולל שלושה סוגים של נוגדנים מהונדסים, שכולם מכוונים כנגד אפיטופים בנגיף. מהו היתרון הגלום בשימוש בהרכב של נוגדנים מהונדסים כתרופה במקרה זה?

### ? שאלה 45

ההבדל בין נוגדן כלאיים עכבר-אדם (נוגדן כימרי) לנוגדן מאונש המכוון לאפיטופ מסוים מתבטא:

- במבנה הכללי של החלבון
- באנטיגן שהנוגדן מכוון כנגדו
- בשיעור הגבוה יותר של רצפים עכבריים שנוגדן הכלאיים מכיל, בהשוואה לנוגדן המאונש
- בשיעור הנמוך יותר של רצפים עכבריים שנוגדן הכלאיים מכיל, בהשוואה לנוגדן המאונש

### ? שאלה 46

נוגדני הכלאיים והנוגדנים המאונשים ידועים ביתרונותיהם בהקשרים של פיתוח תרופות. הסבירו ונמקו מדוע למרות זאת בפיתוחן של תרופות רבות משתמשים בנוגדנים אנושיים ב-100%?

### ? שאלה 47

מדוע נוגדן חד-שרשרתי יכול להתבטא בקלות בתאי חיידקים, בניגוד לנוגדן בעל מבנה מלא של ארבע שרשרות חלבון? הסבירו ונמקו.

### שאלה 48 ?

במה מתבטא היתרון העיקרי של השימוש בנוגדן החד-שרשרתי כתרופה, בהשוואה לנוגדן בעל ארבע שרשרות חלבון?

- א. במבנהו הקטן יחסית של הנוגדן החד-שרשרתי
- ב. במבנהו הגדול יחסית של הנוגדן החד-שרשרתי
- ג. בספציפיות הגבוהה יותר של הנוגדן החד-שרשרתי לאנטיגן
- ד. ביעילותו הגבוהה יותר של הנוגדן החד-שרשרתי בהפעלת מנגנונים להמתת האנטיגן ולסילוקו

### שאלה 49 ?

מהו הרכב הנוגדן החד-שרשרתי?

- א. חלק מהשרשרת הכבדה במקטע Fc ובמקטע Fab
- ב. חלק מהשרשרת הכבדה וחלק מהשרשרת הקלה – במקטע Fc
- ג. חלק מהשרשרת הכבדה וחלק מהשרשרת הקלה – במקטע Fab
- ד. שרשרת קלה בלבד

### שאלה 50 ?

מדוע נוגדן חד-שרשרתי אינו יעיל בהפעלת מנגנוני ההמתה והסילוק של האנטיגן מהגוף?

- א. הוא אינו כולל מקטע Fab
- ב. הוא אינו כולל מקטע Fc
- ג. ממדיו קטנים מדי
- ד. הוא אינו מצוי בגוף באופן טבעי

### 3.3.5 | ייצור נוגדנים חד-שבטיים אנושיים בעכברים טרנסגניים ונוגדנים חד-שרשתיים בעזרת ספריית פאג'ים

בשנות ה-80 של המאה ה-20 החלו ניסיונות לייצר נוגדנים חד-שבטיים בתאי היברידיזמה אנושיים. הניסיונות לייצר היברידיזמה של תאי B שהופקו מדם היקפי של אדם מאוחים עם תאי מיאלומה אנושיים – לא צלחו עקב בעיות ביציבות הגנטית או עקב איבוד כושר ייצור הנוגדנים של תאי היברידיזמה. גם הניסיונות לייצר היברידיזמה מתאי מיאלומה של עכבר ותאי פלסמה אנושיים לא עלו יפה, וגם במקרה זה התאים שנוצרו היו בלתי יציבים גנטית.

לעומת כישלון הניסיונות לייצר נוגדנים חד-שבטיים בתאי היברידיזמה אנושיים, פותחו שיטות שבאמצעותן מיוצרים כיום נוגדנים אנושיים לצורכי טיפול וריפוי. השימוש בנוגדנים אנושיים כאמצעי טיפולי יעיל חייב פיתוח שיטות לייצור הנוגדנים בטכנולוגיות של הנדסה גנטית. שתי השיטות העיקריות המשמשות לפיתוח נוגדנים חד-שבטיים אנושיים כוללות שימוש בבעלי חיים טרנסגניים המבטאים גנים אנושיים לייצור נוגדנים או שימוש בספריית נוגדנים המוצגות על ידי פאג'ים.

#### ייצור נוגדנים חד-שבטיים אנושיים בעכברים טרנסגניים

שיטה זו נועדה לייצר עכבר טרנסגני שתאיו מייצרים נוגדנים שאינם מקודדים מגנים עכבריים אלא מגנים אנושיים, מתוך הנחה כי באמצעות עכברים טרנסגניים אלו יתאפשר ייצור נוגדנים אנושיים, על ידי יצירת היברידיזמות, בדומה לתהליך יצירת נוגדן חד-שבטי עכברי רגיל. לשם כך יצרו החוקרים בשיטות של הנדסה גנטית עכברים שנוטרלה בהם היכולת לייצר את הנוגדנים העכבריים הטבעיים, והוספה מערכת ביטוי מלאכותית של נוגדנים אנושיים. לפיכך, חיסון עכבר כזה אמנם הוביל ליצירת תגובה חיסונית בדומה לעכבר רגיל, אך הנוגדנים שנוצרו בו על ידי תאי הפלסמה היו אנושיים. יתרה מכך, מתאי B שהגיבו לאנטיגן בעכברים אלו התאפשר לבדוד את המידע הגנטי הדרוש לייצור הנוגדן ולשבטו בתאי תרבית המאפשרים ביטוי יעיל וגבוה של הנוגדן.

טבלה 4 מציגה דוגמאות לנוגדנים חד-שבטיים אנושיים שה-FDA (מנהל המזון והתרופות האמריקני) אישר את שימושם כתרופות, והם מיוצרים באמצעות עכברים טרנסגניים.

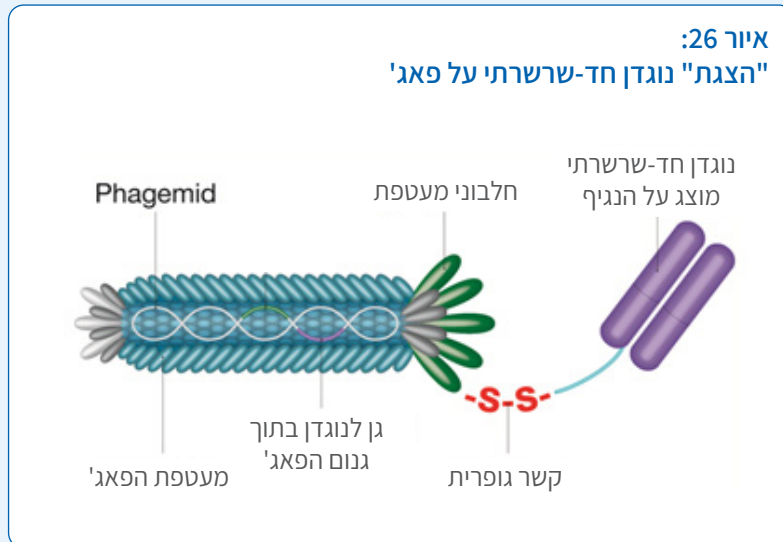
#### טבלה 4:

#### נוגדנים חד-שבטיים אנושיים שה-FDA אישר את שימושם כתרופות, וייצורם הוא באמצעות עכברים טרנסגניים, לפי שנת האישור

שם הנוגדן	שנת האישור	אנטיגן המטרה שכנגדו מכון הנוגדן	דוגמאות למחלות המטופלות באמצעות הנוגדן
Yervoy (Ipilimumab)	2011	CTLA-4/CD152	מלנומה
Prolia (Denosumab)	2010	RANKL	אוסטאופורוזיס
Humira (Adalimumab)	2009	TNF-α	דלקת מפרקים
Arzerra (Ofatumumab)	2009	CD20	לוקמיה
Stelara (Ustekinumab)	2009	IL-12/IL-23	פסוריאזיס

## ייצור נוגדנים חד-שבטיים אנושיים בעזרת ספריית פאג'ים

בקטריופאג'ים (להלן הקיצור "פאג'ים") הם נגיפים המדביקים תאי חיידקים על ידי היצמדות לתא החיידק והחדרת הגנים הנגיפיים אל תוך החיידק. כך מייצר החיידק נגיפים חדשים. הפאג' העיקרי המשמש להצגת נוגדנים הוא מסוג M13 השייך למשפחת הפאג'ים הפילמנטיים (Filamentous phages). בשיטה זו הרעיון הוא ליצור ספרייה של פאג'ים שבה לכל פאג' מוצמדת בנפרד זרוע ה-Fab של נוגדן אנושי שונה, או של נוגדן חד-שרשרתי, באמצעות קשר גופרית הנוצר עם חלבון המעטפת של הנגיף (ר' איור 26).



בספריית הפאג'ים, כל פאג' מציג מקטעי Fab של נוגדן אחר. כך, אפשר לסרוק ולחפש בספרייה את הנוגדן הייחודי שבכוחו להיקשר לאנטיגן המבוקש. לאחר מכן, אפשר לבדוד את הפאג' ולהפיק ממנו את רצף הדנ"א המקודד לנוגדן המתאים. רצף זה אפשר לבטא בתאי תרבית לצורך ייצור הנוגדנים הייחודיים לאותו אנטיגן.

### שלבי בנייתה של ספריית פאג'ים לביטוי נוגדן אנושי, וסריקת הנוגדנים לגילוי הנוגדן הספציפי

1. בידוד מגוון רצפי אזורים משתנים של נוגדנים אנושיים (מאדם), או יצירת רצפים סינתטיים.
2. הטמעת רצפי האזורים המשתנים של הנוגדנים אל תוך גנום הפאג', כך שיבוטאו בצמוד לחלבון המעטפת של הפאג'.
3. הדבקת החיידקים בספריית הפאג'ים המהונדסים כדי שתאי החיידקים ייצרו את הפאג'ים המהונדסים.
4. סריקת הפאג'ים בעזרת מערכת ELISA, לזיהוי פאג'ים בעלי יכולת היקשרות לאנטיגנים ספציפיים (ר' שיטת ELISA בפרק 4).
5. בידוד הפאג'ים בעלי יכולת היקשרות לאנטיגן מסוים וגידולם בתאי חיידקים מסוג E.Coli.
6. זיהוי הגנים המקודדים לנוגדנים הספציפיים כנגד האנטיגן ובידודם, במטרה להעבירם בהמשך לתרבית תאים כדי לייצר נוגדנים רקומביננטיים אלו.

[Phage Display: הדמיית תהליך ייצורו של נוגדן חד-שבטי](#)  
[מהונדס בעזרת ספריית פאג'ים.](#)





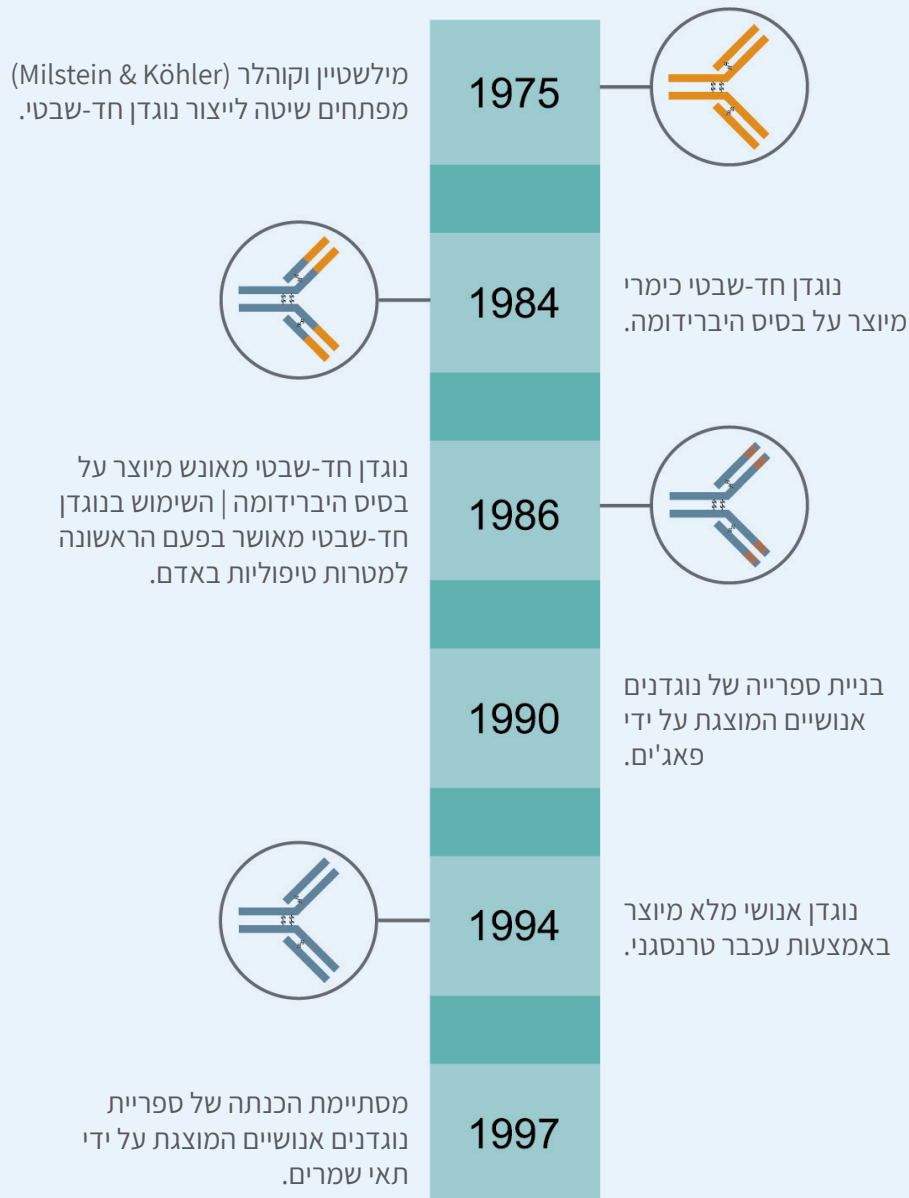
שיטת ייצור נוגדנים זו זיכתה את מפתחה הבריטי, גרגורי וינטר (Winter), בפרס נובל לכימיה לשנת 2018.

[אתר פרסי נובל – פרס נובל לכימיה לשנת 2018](#)



## קצת היסטוריה

אמצעי ייצור נוגדנים המותאמים למטרות טיפוליות התפתחו לאורך כ-20 שנה, שבמהלכן נרשמו כמה נקודות ציון חשובות ביכולות הטכנולוגיות ובדרכי הייצור, עד להגעה לאפשרויות סריקה ופיתוח של נוגדנים חד-שבטיים אנושיים, היכולים להתאים לפיתוח נוגדן כנגד כל אנטיגן שיידרש.





# פרק 4: אימונודיאגנוסטיקה – אבחון באמצעות נוגדנים

## הקדמה

תכונותיהם הייחודיות של הנוגדנים שימשו השראה לפיתוח מבחר שיטות מעבדה אימונולוגיות בעשרות השנים האחרונות. כך, יכולתם של הנוגדנים לזהות מולקולות שונות ולהיקשר אליהן ספציפית היוותה בסיס לפיתוח שיטות לזיהוי מולקולות שונות ולמדידה כמותית וספציפית שלהן בתמיסות, לרבות תמיסות שמקורן בנוזלי הגוף. מבנה הנוגדן שימש בסיס לפיתוח שיטות לאבחון ולזיהוי תאים ורקמות למטרות מחקר ואבחון רפואי במצבים פתוגניים רבים.

שיטות אימונולוגיות אלו מתבססות כאמור על יכולת הקישור הייחודית של הנוגדן לאנטיגן, ליצירת תצמיד בעל זיקה גבוהה. לכן, הן מתאפיינות במידה גדולה של רגישות וספציפיות ביכולת האבחון שלהן, ומאפשרות אבחון גם במצבים של ריכוזי אנטיגן נמוכים וכן בתערובות מרובות מרכיבים.

תנאי הכרחי לשימוש בשיטות אלו הוא הימצאותו של נוגדן ספציפי המכוון כנגד האנטיגן המבוקש. עם הנוגדנים המשמשים בשיטות השונות נמנים סוגי הנוגדנים שתוארו עד כה – רב-שבטיים, חד-שבטיים או מהונדסים. שיטות האבחון שייסקרו בפרק זה מבוצעות במעבדה, בלי להחדיר את הנוגדן לגוף האדם. לכן, בשיטות אלו אין צורך בשימוש בנוגדנים ממקור אנושי.

הפרק מציג שיטות נבחרות המשמשות כיום לאבחון רפואי ולמחקר ביולוגי, מתוך מגוון השיטות בתחום. ההבדל העיקרי בין השיטות האימונולוגיות שיוצגו מתבטא בדרך זיהויו של התצמיד נוגדן-אנטיגן. התצמיד יכול להיות מזוהה על ידי שינוי נראה לעין בדגימה הנבחנת, כפי שבא לידי ביטוי בשיטת ההצמחה, או בעזרת קישור של סמן פלואורסצנטי או מרכיב אנזימטי לנוגדן במקטע Fc שלו. קישור זה אינו מפריע לנוגדן ביצירת התצמיד לאנטיגן, שכן התצמיד מתבצע באמצעות זרועות Fab של הנוגדן.

החומרים העיקריים המשמשים כיום לסימון נוגדנים הם משני סוגים:

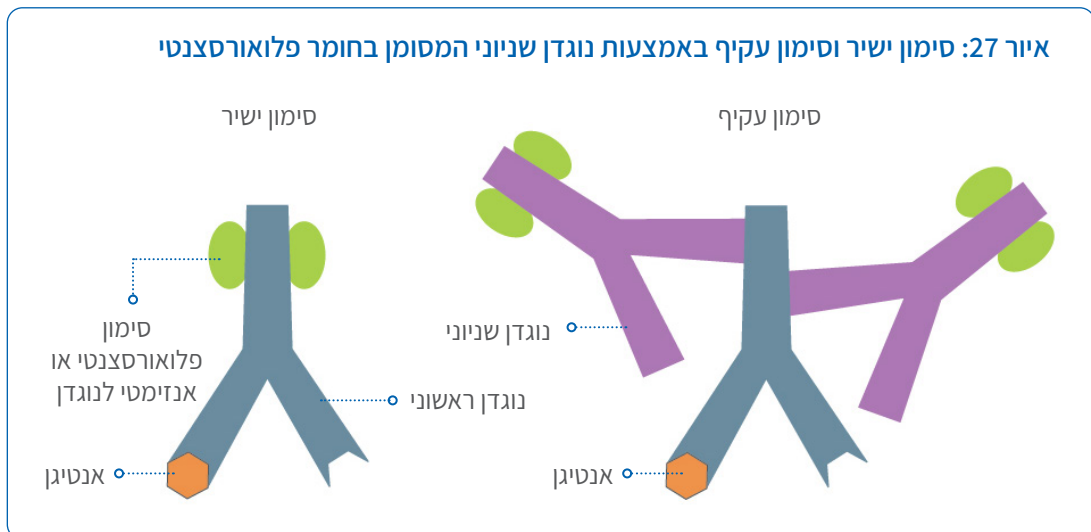
- **חומרים פלואורסצנטיים:** חומרים שבעת עירורם על ידי אור או קרינה אלקטרומגנטית פולטים אור באורך גל מסוים. אורכי הגל השונים מתורגמים באמצעות תוכנת מחשב ייעודית לצבעים שונים.
- **אנזימים:** חלבונים שבעקבות קישורם למצע הספציפי להם, נוצר תוצר הניתן למדידה כגון אור או צבע.

## נוגדן שהוא אנטיגן של נוגדן אחר

מאחר שגם נוגדן הוא חלבון, הרי שאם הוא מוזרק לאורגניזם מזן שונה, יכולה להיווצר כנגדו תגובה חיסונית. עובדה זו משמשת בייצור שיטות לאבחון נוגדנים, שבהן הגורם הנבדק, ה"אנטיגן", הוא נוגדן. דוגמאות:

1. **נוגדנים מעבדתיים כנגד נוגדני אדם:** במקרים שנחוץ לקבוע אם אדם מחוסן נגד נגיף מסוים, ייבדק בשיטה זו ריכוז הנוגדנים בדמו כנגד אותו נגיף. את תפקיד האנטיגן ימלאו הנוגדנים הספציפיים כנגד אותו נגיף, והם יזוהו באמצעות נוגדנים המיוצרים במעבדה כנגד נוגדני אדם ספציפיים.

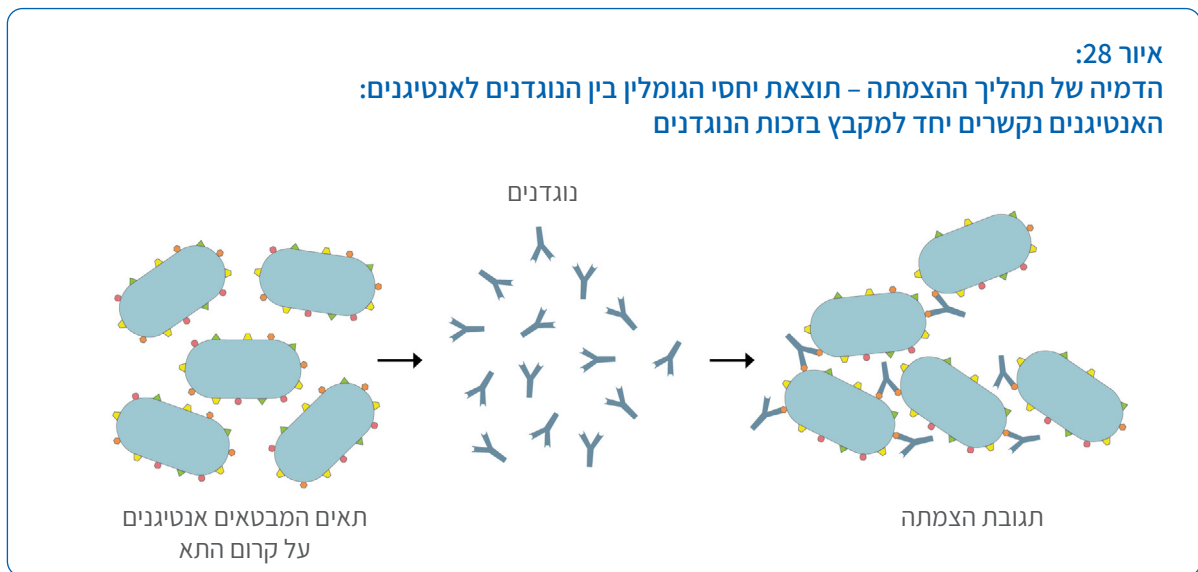
2. **נוגדן שניוני:** נוגדן המכון כנגד הנוגדן הראשוני הקשור לאנטיגן, כך שהאנטיגן של הנוגדן השניוני הוא הנוגדן הראשוני. טכניקה זו משמשת במבחר גדול של שיטות אבחון אימונולוגיות. כשהנוגדן השניוני נושא חומר מסמן – חומר פלואורסצנטי או אנזים הקשור למקטע Fc שלו – קישורו לנוגדן הראשוני מאפשר את זיהוי מיקומו או כמותו היחסית של הנוגדן הראשוני, ולפיכך של האנטיגן הנבדק. לצד שיטת סימון עקיפה זו, קיימת שיטת סימון ישירה, המאפשרת לקשור חומר מסמן לנוגדן הראשוני. במקרים רבים נהוגה שיטת סימון עקיפה, כשהנוגדן השניוני המכון כנגד הנוגדן הראשוני הוא רב-שבטי. הנוגדן השניוני הרב-שבטי נקשר לאזור Fc של הנוגדן הראשוני. כך לדוגמה, אפשר להשתמש בנוגדן ראשוני חד-שבטי מעכבר, ואליו לכונן נוגדן רב-שבטי המזהה את חלק Fc של נוגדנים עכבריים. מקורו של נוגדן רב-שבטי זה יכול להיות לדוגמה בעז שחוסנה בנוגדן עכברי. בסיומו של התהליך, יתחברו כמה נוגדנים שניוניים לכל נוגדן ראשוני, שכן מאחר שהנוגדנים השניוניים ששימשו הם רב-שבטיים, הם יזוהו כמה סוגים של אפיטופים על פני הנוגדן העכברי, ותתקבל הגברה של החומר המסמן – הפלואורסצנטי או האנזימטי. התוצאה תהיה יכולת משופרת לאתר את האנטיגן שהנוגדן הראשוני קשור אליו.



## 4.1 | שיטות המבוססות על כושר ההצמחה (אגלוטינציה) של נוגדנים

### 4.1.1 | תהליך ההצמחה (אגלוטינציה, המאגלוטינציה)

תהליך ההצמחה (אגלוטינציה) מתרחש כשזרוע Fab אחת של הנוגדן נקשרת לאנטיגן אחד, לדוגמה חיידק, והזרוע האחרת – לאנטיגן בעל אפיטופ זהה. בפועל, בגוף, תופעה כזו תשפר את כושר נטרולו של האנטיגן וסילוקו מהגוף, והיא תתרחש ביתר קלות אם אותו אפיטופ יתבטא על פני האנטיגן מספר רב של פעמים. כשנוצרים קישורים רבים כאלו של הנוגדנים, ייווצרו צברים גדולים של האנטיגן. בתגובה זו אפשר להבחין בנקל, גם בלי מיקרוסקופ. שיטה זו, המבוססת על כושר ההצמחה של הנוגדנים, מתאימה רק לאבחון אנטיגן המוצג על פני תאים, ואינה מתאימה לאבחון אנטיגן תוך-תאי, מכיוון שהנוגדן אינו חודר את קרום התא. כמו כן שיטה זו אינה מתאימה לאבחון אנטיגן מסיס בתמיסה, מאחר שלא יתאפשר להבחין בתלכיד הנוצר עקב ממדיו הקטנים.



Agglutination reaction:  
תגובת ההצמחה – הדמיית התהליך



### 4.1.2 | דוגמאות ליישום שיטת ההצמחה: זיהוי סוגי דם, קביעת היריון

הדוגמה המובהקת לשימוש בשיטת ההצמחה היא **המאגלוטינציה**, תהליך הצמחת תאי דם אדומים. תאי הדם האדומים מסוגים שונים מבטאים באופן שונה על קרום התא שלהם אנטיגנים רב-ערכיים שונים, המסומנים A-, B, Rh (אנטיגן Rh נקרא גם Rhesus, וסוג הדם מסומן Rh+).

בנסיוב (סרום) של אדם בעל סוג דם מסוים יימצאו נוגדנים כנגד האנטיגנים שאינם באים לידי ביטוי בתאי הדם שלו, בשל יצירת נוגדנים לאנטיגנים חיידיקים דומים. לדוגמה, לאדם בעל סוג דם A, כלומר שתאי הדם שלו מבטאים את האנטיגן A, לא יהיו בדם נוגדנים כנגד אנטיגן A, לעומת זאת יימצאו בדמו נוגדנים כנגד אנטיגן B. אם אדם זה יקבל עירוי דם מאדם שתאי הדם האדומים שלו מבטאים את האנטיגן B, הרי שמקבל העירוי יהיה בסכנת חיים: הנוגדנים שבדמו ייצרו תהליך הצמחה של תאי דם העירוי, ובעקבות זאת ייווצרו גושי תאים ויחל תהליך של פירוק תאי הדם שעלול להביא לידי מותו של מקבל העירוי.

טבלה 5:

הסוגים של תאי הדם הקיימים באדם, לפי סוגי האנטיגנים הרב-ערכיים המופיעים על פני קרום התא והנוגדנים המצויים בנסיוב הדם

סוג תא הדם	האנטיגנים המוצגים על פני קרום התא	הנוגדנים המצויים בנסיוב הדם כנגד
A-	A	Rh, B
A+	Rh, A	B
B-	B	Rh, A
B+	Rh, B	A
AB-	B, A	Rh
AB+	Rh, B, A	-
O-	-	Rh, B, A
O+	Rh	B, A

תהליך ההצמחה המתבצע בגוף באופן טבעי ניתן לביצוע בקלות גם במעבדה, על ידי הוספת נוגדן כנגד האנטיגן המבוסס על קרום תאי הדם. התגובה המתקבלת כוללת יצירת צברים של תאי דם, הנפרדים מנוזל הדם. בשיטה זו אפשר לקבוע בדרך פשוטה מהו סוג הדם בכל דגימת דם: מחלקים דגימת דם לשלוש דגימות לבדיקה ומניחים אותן על גבי שלוש זכוכיות נושא או בבאריות. מוסיפים לכל דגימה נוגדן אחר: כנגד אנטיגן A, אנטיגן B או אנטיגן Rh, וממתינים לתגובה. תוצאותיהן של שלוש הדגימות יאפשרו לקבוע את ביטוי האנטיגנים בתאים; תגובת הצמחה חיובית משמעותה שהתאים מבטאים את האנטיגן שכנגדו מכוון הנוגדן.

תמונה 1:

בדיקת המאגלוטינציה – הצמחה של תאי דם

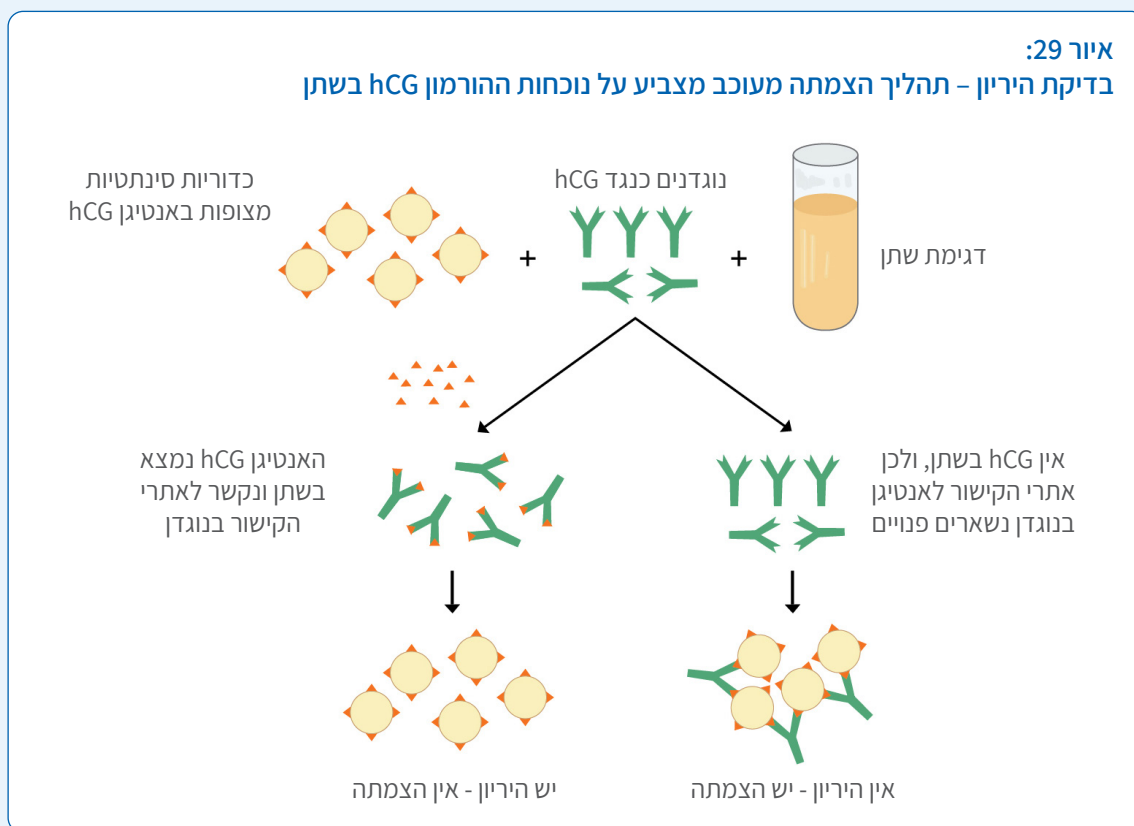


אנטיגנים על תאי הדם האדומים:

הסבר תהליך ההצמחה של תאי דם (המאגלוטינציה).



מלבד שיטה זו, המשמשת בנוכחות תאים המבטאים אנטיגן רב-ערכי באופן טבעי, אפשר לבחון תהליך אגלוטינציה מלאכותי באמצעות כדוריות סינתטיות שאליהן מחובר האנטיגן המבוקש. שיטה זו של אגלוטינציה מלאכותית משמשת, לדוגמה, לאבחון היריון. השיטה מבוססת על נוכחות ההורמון הגונדוטרופי השלייתי האנושי (להלן: hCG, Human Chorionic Gonadotropin) בשתן או בדם, שכן ההורמון מופרש לשתן ולדם על ידי השליה המתפתחת כבר בשבוע השני להיריון. בשיטה זו יוצרים ערכה לבדיקת הימצאות ההורמון בשתן, הכוללת כדוריות סינתטיות עשויות לאטקס, שאליהן מוצמד ההורמון hCG וכן נוגדנים כנגד ההורמון זה. הבדיקה מבוססת על עקרון התחרות, שלפיו ההורמון hCG הנמצא בשתן של האישה ההרה, יתחרה על קישור נוגדני הערכה לכדוריות הסינתטיות הנושאות hCG. בדגימת שתן של אישה הרה יש נוכחות של הורמון זה המופרש מהשליה. ההורמון ייקשר לנוגדן ויתחרה ביכולתו של הנוגדן להיקשר לכדוריות הסינתטיות. התוצאה תהיה עיכוב של תהליך ההצמטה. איור 29 מדגים את העיכוב.



### 4.1.3 | יתרונותיו וחסרונותיו של האבחון בשיטת ההצמטה

שיטת ההצמטה פשוטה ליישום, מהירה ואינה דורשת שימוש בנוגדנים מסומנים. יתר על כן, תוצאות האבחון ניתנות לזיהוי בעין או באמצעות מיקרוסקופ, ואינן מחייבות ציוד מדידה או אמצעי זיהוי מתוחכמים. עם זאת, האבחון בשיטה זו מוגבל מבחינת יכולת זיהוי של אנטיגנים רבים המומסים בתמיסה או הנמצאים בתוך תאים. שיטה זו מתאימה רק במקרים שהאנטיגן מבוטא על פני קרום התאים או על שטח המעטפת של הכדוריות הסינתטיות, וככל שהאנטיגן מבוטא בכמות גדולה יותר על קרום התא, תגבר יעילותה של תגובת ההצמטה.

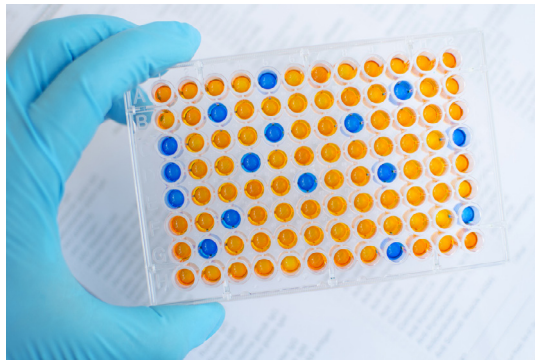
## 4.2 | שיטת ELISA – בוחן אימונו-אנזימטי על משטח מוצק

שיטת ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) היא כיום השיטה העיקרית לאבחון כמותי של אנטיגנים ונוגדנים המסיסים בתמיסות, כגון דם, שתן ונוזלי תרבית תאים. שימוש נרחב זה בשיטה נובע מיעילותה ומיתרונותיה החשובים, ובראשם:

1. פשטות הביצוע.
2. אפשרות לכימות האנטיגן.
3. רגישות גבוהה בזיהוי אנטיגנים, גם אם ריכוזי האנטיגן נמוכים מאוד.
4. ספציפיות גבוהה בזיהוי אנטיגנים שונים המעורבבים בתמיסה.

העיקרון הבסיסי בשיטה הוא שאנטיגן השרוי בנוזל, כאמור, נצמד לפלטת בדיקה עשויה פלסטיק שסופחת חלבונים בצורה לא-ספציפית. הניסוי מבוצע על גבי פלטה המחולקת ל-96 באריות (ר' תמונה 2). האנטיגן מזוהה על ידי נוגדן שאליו קשור אנזים. הנוגדן מכון ספציפית כנגד האנטיגן, ולאחר שהוא נקשר אליו, שוטפים את שאריות הנוגדן שלא נקשרו לאנטיגן. לאחר הוספת המצע, האנזים יפרק את המצע שלו כך שיתפתח חומר בעל צבע הניתן למדידה. תוצאות הניסוי, לרבות מדידה של עוצמת צבע החומר, יתקבלו באמצעות מכשיר ספקטרופוטומטר מיוחד – ELISA plate Reader (ר' תמונה 3). המכשיר קורא את ערך הבליעה באורך גל מסוים, בהתאם לסוג התוצר ולצבעו, בכל הבאריות בעת ובעונה אחת, ומציג ערכי בליעה עבור כל בארית.

תמונה 2:  
דוגמה לפלטת ELISA המחולקת ל-96 באריות

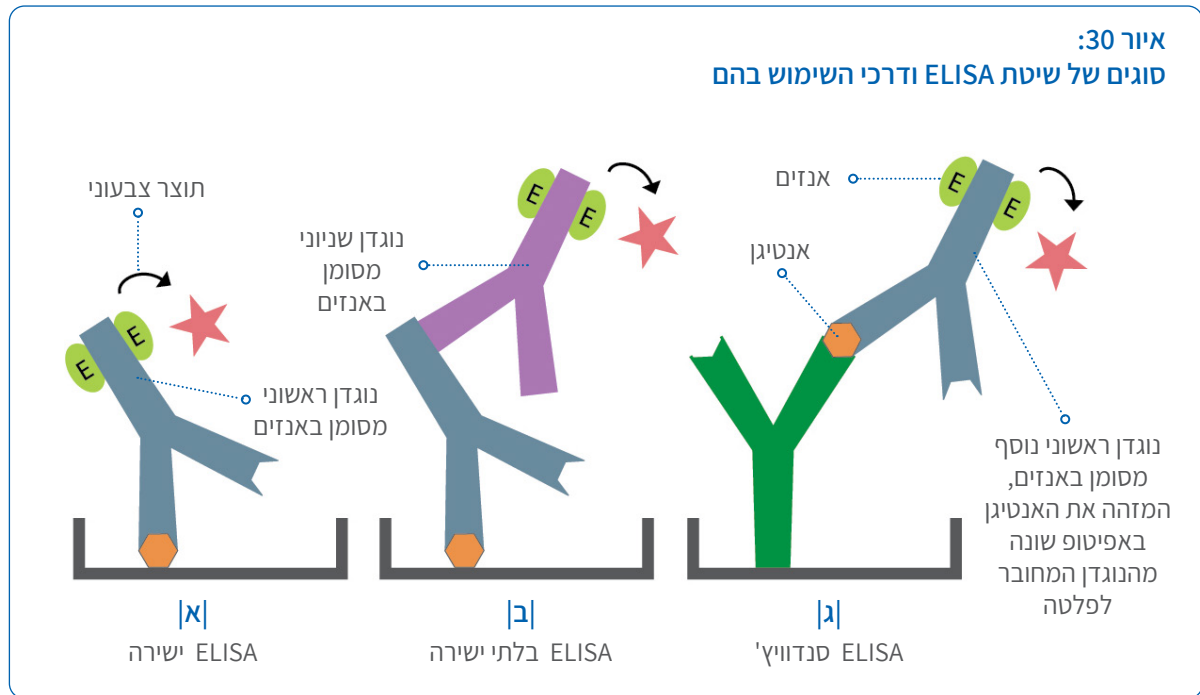


תמונה 3:  
מכשיר ELISA plate Reader



## 4.2.1 | שיטת ELISA ושלביה

השיטה מאפשרת זיהוי אנטיגנים במבחר דרכים. אופן השימוש בשיטה מודגם באיור 30.



### א. ELISA ישירה

1. הצמדת אנטיגן מסיס לפלטת הניסוי; שטיפת עודפי התמיסה לאחר קישור האנטיגן.
2. חסימת פלטת הניסוי על ידי הוספת חלבון אינרטי, למניעת קישור לא ספציפי של הנוגדן לפלטה.
3. הוספת נוגדן ראשוני ספציפי המסומן באנזים, לזיהוי אנטיגן מסוים; שטיפת עודפי הנוגדן שלא נקשר לאנטיגן.
4. הוספת מצע ייחודי לאנזים, במטרה שהאנזים יפעל עליו לקבלת תוצר בעל צבע.
5. קריאת ערך הבליעה בבאריות הניסוי על ידי הספקטרופוטומטר.

### ב. ELISA בלתי ישירה

1. הצמדת אנטיגן מסיס לפלטת הניסוי; שטיפת עודפי התמיסה לאחר קישור האנטיגן.
2. חסימת פלטת הניסוי על ידי הוספת חלבון אינרטי, למניעת קישור לא ספציפי של הנוגדן לפלטה.
3. הוספת נוגדן ראשוני ספציפי לזיהוי האנטיגן; שטיפת עודפי הנוגדן שלא נקשר לאנטיגן.
4. הוספת נוגדן שניוני המסומן באנזים, לזיהוי הנוגדן הראשוני שנצמד לאנטיגן; שטיפת עודפי הנוגדן השניוני שלא נקשר לנוגדן הראשוני.
5. הוספת מצע ייחודי לאנזים, במטרה שהאנזים יפעל עליו לקבלת תוצר בעל צבע.
6. קריאת ערך הבליעה בבאריות הניסוי על ידי הספקטרופוטומטר.



## ג. ELISA סנדוויץ'

1. הצמדת תמיסה של נוגדן ספציפי לפלטת הניסוי; שטיפה של עודפי התמיסה לאחר קישור הנוגדן.
  2. חסימת פלטת הניסוי על ידי הוספת חלבון אינרטי, למניעת קישור לא ספציפי של הנוגדן לפלטה
  3. הוספת תמיסה המכילה אנטיגן במטרה שייקשר לנוגדן הצמוד לפלטה; שטיפת עודפי התמיסה שלא נקשרו לנוגדנים הצמודים לפלטה.
  4. הוספת נוגדן ספציפי נוסף המסומן באנזים, כנגד האנטיגן, הנקשר אליו באפיטופ או באפיטופים שונים מהנוגדן הקשור לפלטה; שטיפת עודפי התמיסה שלא נקשרו לאנטיגן.
  5. הוספת מצע ייחודי לאנזים, במטרה שהאנזים יפעל עליו לקבלת תוצר בעל צבע.
  6. קריאת ערך הבליעה בבאריות הניסוי על ידי הספקטרופוטומטר.
- הערה:** שיטת ELISA סנדוויץ' ניתנת לביצוע גם בסימון עקיף, על ידי שימוש בנוגדן שניוני המסומן באנזים, לזיהוי הנוגדן הראשוני שנצמד לאנטיגן ואינו קשור לפלטה.

[הדגמת שיטות ELISA סנדוויץ' ו-ELISA בלתי ישירה](#)  
[לזיהוי אנטיגנים בתמיסה.](#)



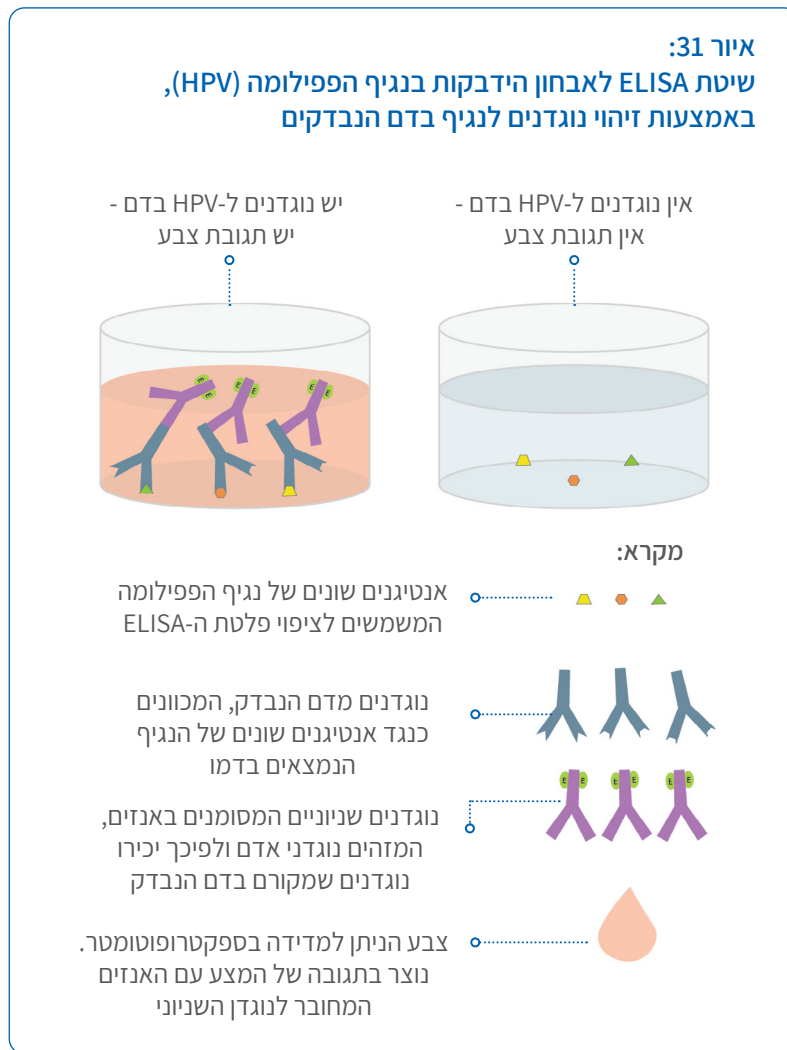
### 4.2.2 | דוגמאות ליישומים בשיטת ELISA

אחד היישומים הנפוצים של שיטת ELISA הוא זיהוי נוגדנים בדם. כשפתוגן חוזר לגוף האדם, והאדם מייצר כנגדו נוגדנים המצויים בדמו, אפשר לזהות נוגדנים אלו באמצעות מבחן ELISA. במקרה זה, הנוגדנים שיצר האדם כנגד הפתוגן יוצמדו לפלטה ויהוו למעשה אנטיגן. לאחר שלב זה, יוסף לפלטה נסיוב שנלקח בבדיקת דם, כדי לבדוק האם הוא מכיל נוגדנים בעלי יכולת קישור לאנטיגנים שבפלטה. במידה ואכן בנסיוב היו נוגדנים כנגד הפתוגן, כאשר הפלטה תוגב עם נוגדנים שניוניים מזהי נוגדני אדם וכן עם המצע המתאים לאנזים, תתקבל תגובת צבע חיובית. כך נקבעת לדוגמה נוכחותם של נוגדנים למחלת האדמת – בדיקה שנעשית במיוחד לנשים הרות – שכן הימצאות הנגיף בגוף האישה ההרה כרוכה בסיכון גבוה לנזק לעובר.

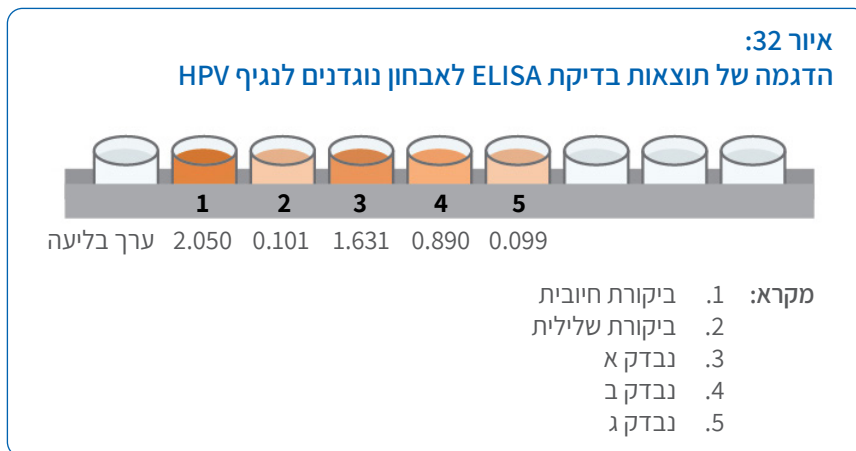
[הדמיית אבחון הימצאותם של נוגדנים שמקורם בנסיוב הדם, בשיטת ELISA.](#)



דוגמה נוספת היא הבדיקה לזיהוי נוגדנים כנגד נגיף הפפילומה האנושי (Human Papilloma Virus, HPV). ההידבקות בנגיף זה מייצרת תגובה חיסונית הכוללת הפעלת תאי B וייצור נוגדנים כנגד הנגיף. תגובה חיסונית זו אינה תמיד יעילה כנגד הנגיף, אך עצם ייצורם של נוגדנים ספציפיים בגוף כנגד אנטיגנים של הנגיף מהווה עדות להידבקות במחלה.



בעת ביצוע מבחן ELISA, לדוגמה לאיתור נוגדנים כנגד נגיף HPV בנסיוב האדם, עוצמת הצבע תהיה ביחס ישר לכמות הנוגדנים הנמצאים בנסיוב. נוכחות גבוהה יותר של נוגדנים בנסיוב הנבדק תוביל להיקשרות רבה יותר של נוגדנים נושאי אנזים, ובעקבותיה פירוק רב יותר של המצע. קריאת התוצאות בספקטרופוטומטר מספקת נתונים על ערך הבליעה של כל בארית ובארית.



כדי שערך הבליעה ייחשב חיובי, יש לבדוק כי ערך הבליעה שהתקבל בבארית המבוקשת גבוה מזה שהתקבל בבארית הביקורת השלילית שאליה הוסף נסיוב שאינו מכיל נוגדנים כנגד האנטיגן. כדי לוודא שהבדיקה תקינה מוסיפים לפלטת הניסוי בארית לביקורת חיובית, המכילה

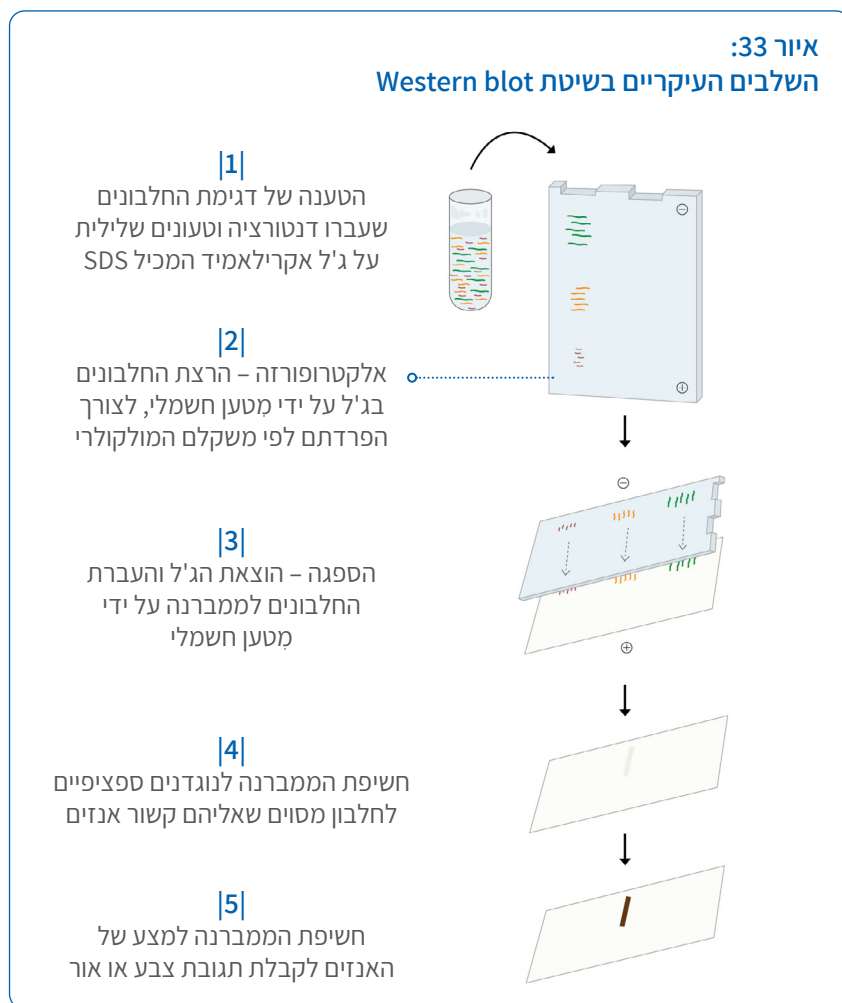
דגימת נוגדנים ספציפיים כנגד האנטיגנים. בביצוע מבחן זה יש אף לוודא כי אכן ריכוזי החומרים שמשמשים בהם הם בתחום הליניארי של הבדיקה. בתוצאות לדוגמה המוצגות באיור 32 אפשר להיווכח כי תוצאת הבדיקה של נבדקים א ו-ב היא חיובית, וערך הבליעה שהתקבל בבאריות אלו גבוה מזה של הביקורת השלילית. לעומת זאת, בדיקת נבדק ג העלתה כי ערך הבליעה שהתקבל לאחר הוספת נסיוב מדמו היא נמוכה מהביקורת השלילית, ולפיכך סביר להניח כי בדמו אין נוגדנים כנגד הנגיף.

## 4.3 | שיטת Western blot (תספיג מערבי)

שיטת Western blot (הקרויה גם תספיג חלבונים מערבי) משמשת לאבחון כמותי השוואתי של אנטיגן חלבוני ספציפי בתוך תערובת חלבונים בתמיסה, ולאיתורו על סמך משקלו המולקולרי. שיטה זו יעילה לכמה מטרות עיקריות:

- השוואה של כמות חלבון ספציפית בין שתי תמיסות או תאים ממקורות שונים.
- אבחון שינויים בחלבון ספציפי, דוגמת שינויים לאחר תרגום כגון זרחון.
- אבחון אינטראקציות בין חלבונים.

שיטת Western blot, כפי שמודגמת באיור 33, מאפשרת מדידה וכימות של חלבון ספציפי. השיטה נחשבת חצי-כמותית, שכן אפשר להשוות באמצעותה רמות ביטוי של חלבון אך ההשוואה מוגבלת ליכולת הגילוי של תוצר הצבע או האור, הנותר בעת התגובה בין האנזים למצע.



### 4.3.1 | שיטת Western blot: שלבים ועקרונות

#### א. הכנת התמיסה של תערובת החלבונים

שיטת Western blot משמשת לאיתור חלבון ספציפי בתוך תערובת חלבונים. התערובת יכולה להיות ממגוון מקורות, ובהם נוזלי גוף, רקמות תאים ותאי תרבית.

אם החלבונים המבוקשים מצויים בתוך תאים, יש להוציאם מהתאים לתערובת באמצעות דטרגנט הממיס את קרום התא ו/או את קרומי האברונים. לאחר המסתת הקרומים מתבצע שלב סרוכוד הדגימה בצנטריפוגה, במטרה להשקיע את קרומי התאים ואת החלקים הגדולים שנותרו ולהפרידם מתערובת החלבונים בתמיסה הרצויה.

## ב. הכנת החלבונים להרצה בג'ל (אלקטרופורזה)

ההכנה של תמיסת החלבונים לצורך הרצתה בג'ל נועדה לאפשר לחלבונים שבתערובת לנוע בג'ל על פי משקלם המולקולרי, בלי קשר למבנה החלבון, קיפולו המרחבי או מטענו הטבעי. לפיכך, שלב ההכנה כולל דנטורציה (פירוק) של חלבוני התערובת באמצעות הרחפתם ב-95°C עם בופר הרצה המכיל מרכיבים אחדים, ובהם:

**SDS) Sodium Dodecyl Sulfate):** תפקידו לצפות את החלבון במטען שלילי.

**בטא-מרקפטואתנול ( $\beta$ -Mercaptoethanol):** חומר מחזר השובר את קשרי הגופרית בחלבון, וכך מפרק את קיפולו המרחבי של החלבון ופותח אותו למבנה ראשוני.

**(BPB) Bromophenol Blue):** צבע כחול שתפקידו לאפשר איתור של התקדמות הרצת החלבונים בג'ל.

## ג. אלקטרופורזה של תערובת החלבונים בג'ל

אלקטרופורזה היא שיטת הפרדה המבוססת על מטען חשמלי. בשיטה זו תערובת החלבונים המתקבלת מוטענת ומורצת ב-SDS-PAGE (SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis) – ג'ל המכיל SDS, שהוא חומר המקנה לחלבונים מטען שלילי, וכן מכיל הג'ל פוליאקרילאמיד, חומר להשגת מרקם סבוך, ובו נעים החלבונים בעלי המטען שלילי לכיוון המטען החיובי.

החלבונים שהוכנו בבופר ההרצה בשלב ב', מוטענים בתוך באריות הממוקמות בחלקו העליון של הג'ל, ובעקבות הפעלת השדה החשמלי מתחילים החלבונים לנוע בג'ל לכיוון האלקטרודה החיובית. באחת מבאריות הג'ל מוטען "סולם", או "סמן גודל" – דגימה מוכנה של חלבונים, לרוב צבועים, בעלי גדלים ידועים. לאחר שלב ההרצה, מושווית דגימת החלבונים לסמן הגודל, וכך מתאפשרת קביעת גודלו המולקולרי של החלבון המבוקש.

בעת ההרצה נפרדים החלבונים זה מזה על פי גודלם, הודות למרקם הסבוך של הג'ל, שבו חלבונים גדולים נתקעים ונעים באיטיות, ואילו חלבונים קטנים נעים במהירות.

• [הפקת חלבונים מתאים לצורך בדיקה](#)  
[Western Blotting Animation – Part I](#)

• [הדמיית שלב ההרצה \(אלקטרופורזה\) בג'ל](#)  
[Western Blotting Animation – Part II](#)



## ד. העברה והספגה של החלבונים מהג'ל לממברנה

להפרדת החלבונים בתערובת על פי משקלם המולקולרי משתמשים בג'ל. מאחר שהג'ל הוא חומר עדין הנוטה להתייבש בקלות ועלול להישבר, הרי שלאחר הפרדת החלבונים בג'ל הם מועברים לממברנה סופחת חלבונים, עשויה לרוב ניטרוצלולוז או פוליווינילידן פלואוריד (Polyvinylidene Fluoride, PVDF), שהם חומרים בעלי כושר ספיחה גבוה של חלבון מכל סוג שהוא. שלב זה מבוצע באמצעות מטען חשמלי חיובי, המושך את החלבונים מהג'ל לכיוון הממברנה.

## ה. חסימת הממברנה באמצעות חלבון אינרטי

זיהוי החלבון הספציפי על גבי הממברנה מתבצע על ידי חשיפתה לנוגדן ספציפי, המכוון כנגד האנטיגן המבוקש. מכיוון שכמו האנטיגן גם נוגדן הוא חלבון, הרי שבעקבות מגעו עם הממברנה החשופה הוא יכול להיספח אליה באופן בלתי ספציפי וליצור סימון על גבי הממברנה כולה, גם במקומות שהאנטיגן שהנוגדן אמור לזהות אינו מצוי בהם. לפיכך, לאחר העברת החלבונים מהג'ל לממברנה (שלב ד'), השלב הבא הוא חסימת הממברנה

בחלבון אינרטי, שאינו מגיב עם הנוגדן, המכסה את כל חלקי הממברנה שאליהם לא עבר חלבון מהג'ל. החלבונים העיקריים המשמשים בשלב זה הם חלבוני חלב או החלבון Bovine Serum Albumin (BSA).

### 1. חשיפת הממברנה לנוגדן ראשוני כנגד האנטיגן המבוקש

לצורך זיהוי האנטיגן הספציפי המבוקש מתוך תערובת החלבונים שהורצה בג'ל והועברה לממברנה, יש לחשוף את הממברנה לתמיסה המכילה את הנוגדן הראשוני המכוון כנגד האנטיגן. החשיפה אורכת עד שעות אחדות, ולאחריה מבוצעת שטיפה בתמיסת בופר, במטרה להרחיק את הנוגדנים שלא נקשרו לממברנה.

### 2. חשיפת הממברנה לנוגדן שניוני שאליו קשור אנזים

שלב זה של חשיפת הממברנה שבה קשור נוגדן לאנטיגן הספוח - לנוגדן שניוני שאליו קשור אנזים, נועד לזיהוי הנוגדן הראשוני שנקשר לאנטיגן החלבוני. החשיפה נעשית על ידי תמיסה המכילה נוגדן שניוני המוצמד לאנזים בחלק Fc שלו. מאחר שהנוגדן השניוני הוא רב-שבטי, הרי שלכל נוגדן ראשוני נקשרים כמה נוגדנים שניוניים, וכך מתקבלת הגברה של הסימון שהנוגדן השניוני מותיר. חשיפת הממברנה לנוגדן השניוני נמשכת בדרך כלל עד שעתים, ולאחריה מבוצעת שוב שטיפה בתמיסת בופר, במטרה להרחיק את הנוגדנים שלא נקשרו לממברנה.

### 3. חשיפת הממברנה למצע (סובסטרט) של האנזים

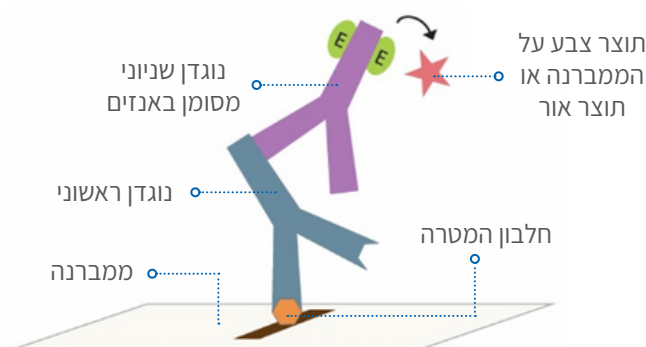
השלב האחרון של שיטת Western blot הוא זיהוי מיקום הנוגדנים שנקשרו על פני הממברנה על ידי חשיפה למצע האנזים הקשור לנוגדן השניוני. סוגים אחדים של אנזימים משמשים לצורך זה, ובהם אנזימים שבתגובה למצע יוצרים תוצר הצובע את הממברנה במקום היווצרותו, או האנזים Horseradish Peroxidase (HRP), היוצר בתגובה עם המצע שלו פוטונים של אור הניתנים למדידה באמצעות פילם (סרט צילום) או על ידי מכשירים למדידת אור.

התוצר המתקבל בשיטה זו הוא פס (band) המופיע על גבי הממברנה בהתאם למיקומו של החלבון הנבדק. חלבונים בעלי משקל מולקולרי דומה יתמקמו בג'ל בשלב ההרצה במקום דומה. עובי הפס ישמש עדות לכמות הנוגדן שהגיבה עם האנטיגן, ולפיכך על כמות האנטיגן. בהתאם, ככל שכמות החלבון שהורצה בערוץ מסוים של הג'ל גדולה יותר, כך יתקבל בנד עבה יותר מאשר בדגימה שהורץ בה פחות מהחלבון הספציפי.

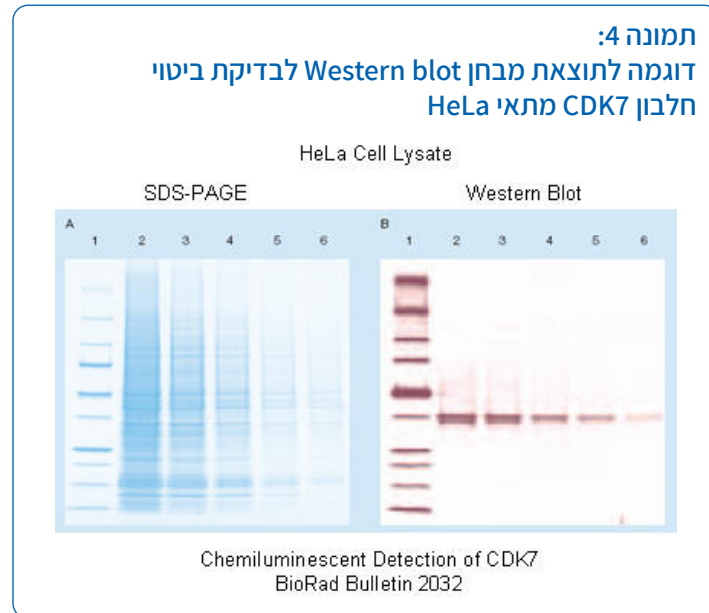
[שלבי ההעברה לממברנה וזיהוי החלבון הספציפי על גבי הממברנה:](#)  
[הדמיית שלבי ההספגה, חסימה וגילוי החלבון הספציפי על ידי נוגדנים](#)  
[Western Blotting Animation – Part III](#)



איור 34:  
גילוי החלבון על פני הממברנה בשיטת Western blot,  
על ידי שימוש בנוגדן ראשוני, נוגדן שניוני המסומן באנזים ומצע האנזים



בתמונה 4 שלהלן בחלק A מוצגת הרצה של מיצוי חלבונים בריכוזים נבחרים, שהופקו מתאי התרבית HeLa. החלבונים שהופקו מהתאים נמהלו בכמה מיהולים, ובכל בארית הורצו חלבונים במיהול גובר. לאחר הרצתם והעברתם לממברנה, נצבעו החלבונים בצבע Coomassie blue, הצובע את כל החלבונים על פני הממברנה באופן לא-ספציפי. בתמונה מוצגת הפרדת החלבונים בג'ל על פי גודלם וכן מודגמת ההשפעה של ריכוז תמיסת החלבונים המורצת על עוצמת הצביעה.



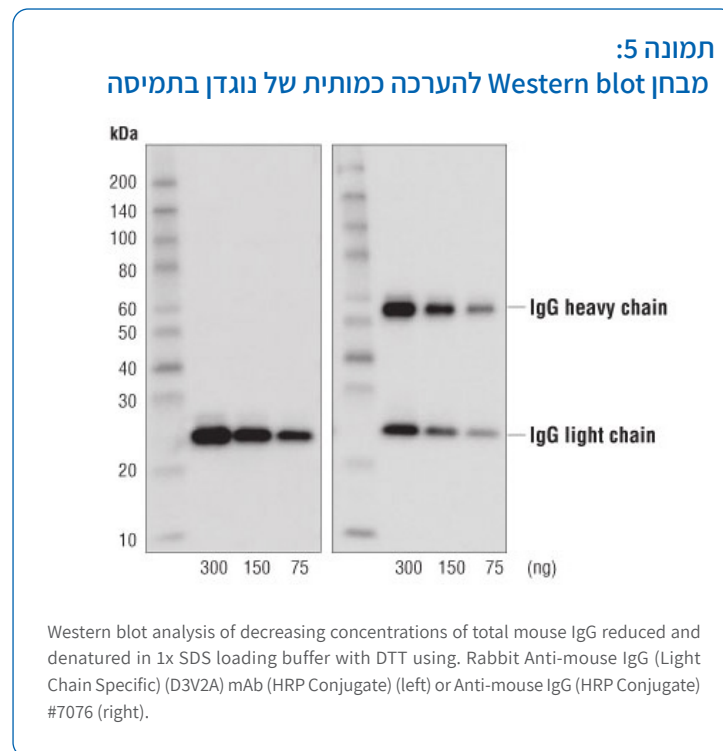
חלק B של תמונה 4 מדגים תוצאה של בדיקת Western blot לאחר חשיפת הממברנה, לנוגדן כנגד החלבון CDK7. בדוגמה זו נראה סמן הגודל (בארית 1) ולאחריו תוצאות ההרצה של דגימות החלבונים בריכוזים שונים שהופקו מתאי HeLa. ניכר כי החלבון CDK7 המסומן על ידי הנוגדן בניסוי זה מופיע בכל הדגימות במיקום זהה בממברנה, אך עובי הבנד שהתקבל ועוצמתו שונים בין דגימה לדגימה, כתלות במיהול הדגימה: ככל שהדגימה מהולה יותר – הבנד דק יותר ועוצמתו נמוכה יותר.

באמצעות תוכנות של קריאה אופטית אפשר לכמת את עוצמת הבנד ועוביו, וכך להעריך את השינוי בריכוז החלבון הנמדד. עם זאת, עוצמת הבנד תלויה ביכולת הגילוי שלו על ידי הנוגדן ובמשך החשיפה עם המצע. לכן, השוואה בין דגימות תתאפשר רק אם הן הורצו יחד על אותו ג'ל.

לצורך הערכה כמותית מדויקת יותר, נהוג להשתמש בחלבון מנרמל – חלבון שְכָמוֹתוֹ נותרת קבועה לאורך הניסוי, והיא אמורה להוות מדד בקרה לכמות החלבון הכללית שהורצה בכל בארית בג'ל. לתפקיד של חלבון מנרמל אפשר להשתמש בחלבונים חיוניים המתבטאים בתאים באופן קבוע ובריכוז קבוע, כגון אקטין (Actin). החלבון אקטין מתבטא בקביעות בשלד התוך-תאי של התאים, וכמותו מהווה מדד לכמות התאים שמהם הופק החלבון בדגימה שהורצה בג'ל. במטרה לאפיין את ריכוז החלבון המנרמל נחשפת הממברנה לנוגדנים המזהים חלבון זה.

## 4.3.2 | דוגמאות ליישומים בשיטת Western blot: זיהוי אנטיגנים בתאים, זיהוי נגיפים

- לשיטת Western blot יישומים רבים בתחום המחקר והאבחון הרפואי, ובהם:
  - הערכה כמותית של ביטוי אנטיגן ספציפי בתאים, במטרה לבדוק שינוי בביטוי גנים בתגובה לטיפול מסוימים או במבחר מצבים פתולוגיים, כגון בתאים סרטניים.
  - הערכה כמותית של ביטוי חלבון מסוים, כגון נוגדנים, בתמיסה (תמונה 5).
  - אבחון הימצאותם של אנטיגנים מסוימים בתאים. לדוגמה, אנטיגנים נגיפיים בתאים המודבקים בנגיף, או אנטיגנים ספציפיים לתאים סרטניים.
  - בחינת יחסי הגומלין (אינטראקציות) בין חלבונים בתא על ידי זיהוי חלבונים נוספים שהיו קשורים לחלבון מסוים.
  - זיהוי שינויים בחלבון, ובכלל זה שינויים שלאחר תרגום, ובהם חיתוך, זרחון וגליקוזילציה. במקרה זה משתמשים לרוב בנוגדן המזהה את החלבון לאחר השינוי, לדוגמה נוגדן המזהה חלבון מזרחן.
  - איתור מוטציות בחלבונים על ידי שימוש בנוגדן המזהה את אזור המוטציה.



בתמונה 5 מוצגת דוגמה ל-Western blot שבוצע לתמיסה המכילה נוגדן מסוג IgG של עכבר, שעבר דנטורציה. העמודה השמאלית מבטאת חשיפה של הממברנה לנוגדן שניוני ממקור ארנבת המזהה את השרשרת הקלה של הנוגדן. נוגדן זה סומן באנזים מסוג HRP היוצר תגובת אור לאחר חשיפה למצע שלו. הבנד שהתקבל תואם בגודלו (כ-25kD) לשרשרת הקלה של הנוגדן. כמו כן נראה כי עוצמת הבנד פוחתת ככל שכמות החלבון שהורצה קטנה יותר.

בעמודה הימנית סומנה הממברנה בנוגדן ממקור ארנבת המכוון כנגד כל החלקים הקבועים של הנוגדן העכברי, הן בשרשרת הכבדה והן בשרשרת הקלה. במקרה זה מופיע ביטוי לשתי שרשרות הנוגדן: לשרשרת הקלה של הנוגדן בגודל כ-25kD ולשרשרת הכבדה בגודל של כ-50kD. גם במקרה זה, ככל שהורף פחות חלבון בבארית הג'ל – כך פוחתת עוצמת הבנדים.

## 4.4 | סימון רקמות ותאים באמצעות נוגדנים הנושאים אנזים או חומר פלואורסצנטי

איתור אנטיגנים על ידי שימוש בנוגדנים המסומנים באנזים (IHC – Immunohistochemistry) או בחומר פלואורסצנטי (FIA - Fluorescent immunoassay) מאפשר להעריך ויזואלית את רמת ביטויים של אנטיגנים ספציפיים ומיקומם בתאים וברקמות, בתגובה לטיפולים מסוימים או למצבים פתולוגיים מוגדרים.

לשיטות אלה יתרונות בולטים באפיון מיקומם של חלבונים ספציפיים ופעולתם בתאים מסוימים, במצבים מוגדרים. יתרה מכך, שיטות אלה מאפשרות הבנה טובה יותר של פעולת החלבונים, ואבחון מצבים פתולוגיים המאופיינים בשינוי ברמת ביטויים של החלבונים, או במקומם בתאים. לדוגמה, במצבים של הידבקות תאים בנגיף והתמרה סרטנית.

### 4.4.1 | שיטות לסימון רקמות ותאים באמצעות נוגדנים המסומנים באנזים או בחומר פלואורסצנטי – עקרונות ושלבי ביצוע

שתי שיטות הסימון – האנזימטי (IHC) והפלואורסצנטי (FIA) – מתאימות ליישום בחתכי רקמה דקים שמקורם ברקמות גוף שניטלת מהן דגימה. שיטת הסימון הפלואורסצנטי מתאימה גם ליישום בשימוש בתאים שלמים המופרדים זה מזה, שמקורם בתרביות תאים, בגוף האדם או בבעלי חיים, דוגמת תאי דם.

#### עקרונות ושלבי ביצוע:

##### א. הכנת חתכי רקמה או דגימות תאים

בתהליך זה משתמשים בחתכי רקמה דקים מאוד, שמקורם בדגימת רקמה מגוף האדם או מבעל חיים, שעברה קיבוע. הרקמה נחתכת לחתכים דקים מאוד המאפשרים הסתכלות מיקרוסקופית תוך-תאית. הקיבוע יכול להתבצע על ידי הקפאת הרקמה בחנקן נוזלי, או שימורה בחומר כימי דוגמת פורמאלדהיד (פורמלין). לעתים, בתלות במטרת הבדיקה, השקעת הרקמה בפרפין מקלה את חיתוכה. אפשרות נוספת היא להשתמש בתאים שגודלו בתרבית או נלקחו מדגימה מהגוף, והוצמדו לזכוכית נושא של מיקרוסקופ. לאחר הכנתם, חתכי הרקמה או התאים מקובעים לזכוכיות נושא למיקרוסקופ באמצעים כימיים, במטרה להפסיק את פעולתם ולמנוע תנועה של המולקולות והאברונים בתוכם. לאחר מכן, מבוצע חירור עדין של התאים בעזרת דטרגנט, שמטרתו לאפשר לנוגדן לחדור לתא ולהיקשר לאנטיגן המיועד לסימון.

##### ב. צביעת התאים וחתכי הרקמה באמצעות נוגדנים מסומנים

לאחר הכנת דגימות התאים או חתכי הרקמה מתבצע שלב סימון האנטיגן המבוקש בתאים באמצעות נוגדנים מסומנים:

תחילה מבוצעת חסימה של הרקמה או התאים עם תמיסת חלבון אינרטי. לאחר מכן, בעת ביצוע סימון תאים בעזרת סימון אנזימטי, מודגרת הרקמה עם נוגדנים ראשוניים המסומנים באנזים או בסימון עקיף עם נוגדנים ראשוניים בלתי מסומנים ונוגדנים שניוניים מסומנים באנזים. לאחר שטיפת הנוגדנים שלא נקשרו מהדגימה מוסף מצע במטרה לקבל תגובת צבע במקום קישור הנוגדנים (ר' תמונה 6).

בסימון פלואורסצנטי של רקמות, ניתן להשתמש בנוגדנים המסומנים בחומרים פלואורסצנטיים שונים (ר' תמונות 7-9), כדי לסמן בעת ובעונה אחת כמה סוגים של אנטיגנים. סימון התאים מתבצע בסימון ישיר באמצעות נוגדן ראשוני המסומן בחומר פלואורסצנטי, או בסימון עקיף באמצעות נוגדן שניוני המסומן בחומר פלואורסצנטי המכוון כנגד נוגדן ראשוני שאינו מסומן.

סימון עקיף מאפשר הגברה של עוצמת הסימון, אך אם סומנו כמה אנטיגנים בד בבד, יועדף לרוב סימון ישיר, בנוגדנים ראשוניים המסומנים בחומרים פלואורסצנטיים הקולטים אור ומעוררים באורכי גל שונים.



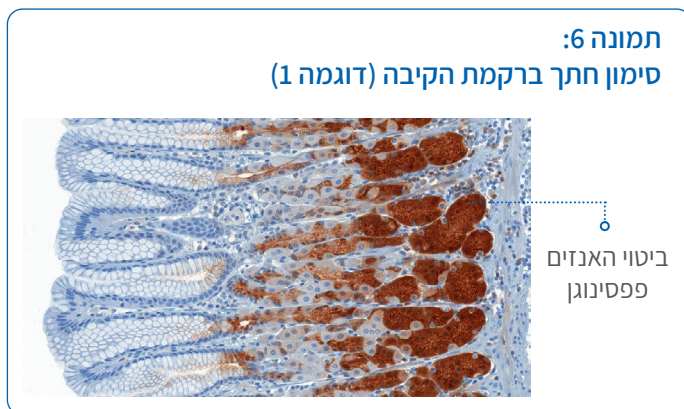
## ג. התבוננות וצילום התאים באמצעות מיקרוסקופ אור או מיקרוסקופ פלואורסצנטי

בתום סימון התאים באמצעות נוגדנים, יבוצע שלב אפיון רמת ביטוי של האנטיגן ומיקומו בתאים בעזרת התבוננות במיקרוסקופ וצילום הדגימה. בשיטת הסימון האנזימטי (IHC), המתאימה לסימון חתכי רקמה, המדידה היא על ידי מיקרוסקופ אור. בשיטת הסימון הפלואורסצנטי (FIA), המתאימה לסימון תאים וחתכי רקמה, המדידה היא על ידי מיקרוסקופ פלואורסצנטי.

במיקרוסקופ הפלואורסצנטי, על דגימת התאים מוקרן אור בצבע כחול, באורך גל שבין 450 ל-490 נאנומטר. פגיעת האור בחומרים הפלואורסצנטיים מייצרת אור פלואורסצנטי העובר דרך פילטרים במיקרוסקופ ומוקרן לעין המתבונן במיקרוסקופ, או למצלמה הממוקמת על גבי המיקרוסקופ. כך מתקבלת תמונת התאים, לרבות הסימון הפלואורסצנטי של הנוגדנים המחוברים לאנטיגנים הספציפיים.

במקרים רבים, נוסף על סימון הנוגדנים ובמטרה לאפיין בדיוק רב יותר את מיקום המולקולות המסומנות על ידי הנוגדנים בתא, מוסיפים לתא גם חומרים כימיים המסוגלים להיקשר למולקולות מסוגים שונים בתא. לדוגמה, מולקולות הדנ"א הנמצאות בגרעין התא, ניתנות לאיתור על ידי צביעתן בחומר צבע או בחומר פלואורסצנטי הגורם לפליטת אור באורכי גל שונים. תוכנה ייעודית קוראת את אורכי הגל ומתרגמת אותם לפי מפתח צבעים. הדוגמאות שלהלן מציגות סימון של מולקולות הדנ"א בחומרים פלואורסצנטיים נבחרים המזוהים תחת המיקרוסקופ בגוון כחול. כמו כן ניתן להסתכל מבעד למיקרוסקופים אלו בתאים ובאורגניזמים קטנים ושקופים, המבטאים חלבונים פלואורסצנטיים דוגמת החלבון GFP (Green Fluorescent Protein).

### 4.4.2 | דוגמאות ליישומי השימוש בנוגדנים המסומנים באנזים או בסימון הפלואורסצנטי

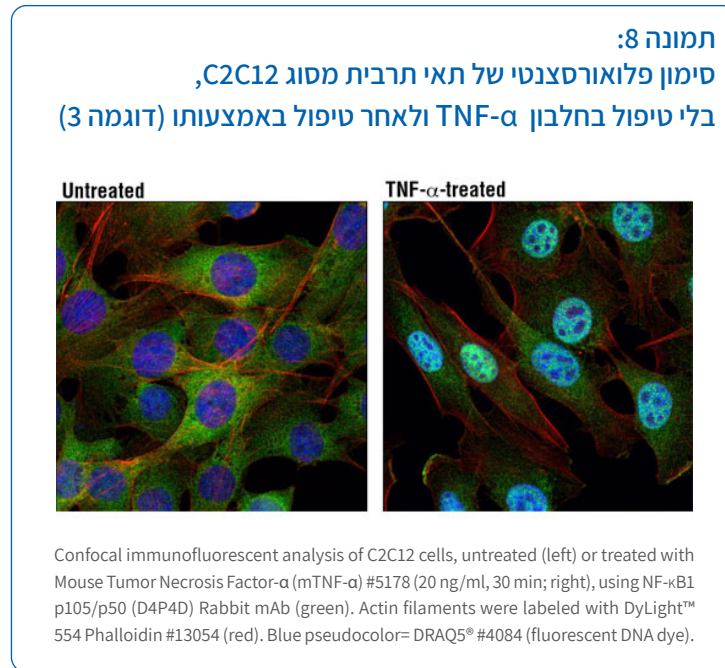


השימוש בנוגדנים המסומנים באנזים בחתך רקמה בשיטת IHC (Immunohistochemistry) מודגם בתמונה 6: האנזים פפסינוגן נצבע בצבע חום בחתך רקמה של קיבה, באמצעות נוגדן המסומן באנזים. כך ניכרים היטב בחתך רקמה זה מבנה תאי הרקמה ומיקום החלבון בתאים אלו.

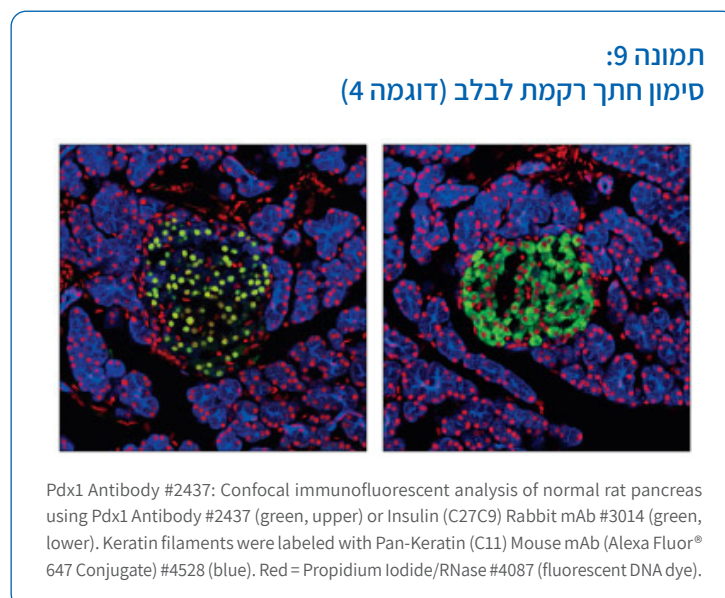


תמונה 7 מדגימה את סימון החלבון LAMP1, הנמצא בקרום אברון הליזוזום, באמצעות נוגדן שאליו קשור חומר פלואורסצנטי המזוהה בצבע ירוק, בתאי תרבית מסוג HeLa. החלבון Actin, שהוא חלק מהשלד התוך-תאי של התא, מסומן בחומר פלואורסצנטי המזוהה בצבע אדום. מולקולות הדנ"א נצבעו באמצעות חומר פלואורסצנטי המזוהה בצבע כחול, שנקשר למולקולות אלה בלבד.

תמונה 8 מדגימה סימון של תאי תרבית מסוג C2C12 בהיעדר טיפול (משמאל) ולאחר טיפול (מימין) בחלבון TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ). ניכר כי בעקבות הטיפול השתנה מיקום החלבון NF- $\kappa$ B1 המאותר על ידי נוגדן שמחובר אליו חומר פלואורסצנטי המזוהה בצבע ירוק. בתאים הבלתי מטופלים היה מיקום החלבון NF- $\kappa$ B1 בציטופלסמה, ואילו לאחר הטיפול ב-TNF- $\alpha$  החלבון כמעט שאינו ממוקם בציטופלסמה אלא חדר לגרעין התא. כדי להדגיש בתאים את מיקום הגרעין ולהבדילו מהציטופלסמה, סומן השלד התוך-תאי בחומר פלואורסצנטי המזוהה בצבע אדום, והדנ"א סומן בחומר פלואורסצנטי המזוהה בצבע כחול. סימון תאים בדרך זו מאפשר לעקוב אחר מיקום החלבון הנחקר בשלל מצבים.



בדוגמה שבתמונה 9 מסומן חתך רקמה של לבלב חולדה באמצעות נוגדן המכוון כנגד חלבון Pdx1 (גורם שעתוק של הגן לאינסולין), שאליו קשור חומר פלואורסצנטי המזוהה בצבע ירוק (משמאל). חתך אחר של הרקמה מסומן בנוגדן כנגד החלבון אינסולין, שאליו נקשר חומר פלואורסצנטי המזוהה בצבע ירוק (מימין). נוסף על כך, מסומנים ברקמה סיבי החלבון קרטין באמצעות נוגדן שאליו קשור חומר פלואורסצנטי המזוהה בצבע כחול, ומולקולות הדנ"א מסומנות בחומר פלואורסצנטי המזוהה בצבע אדום.



## 4.5 | Flow cytometry (FACS – Fluorescence Activated Cell Sorting)

Flow cytometry, או בשמו המקובל יותר FACS, משמש לאבחון אוכלוסיית תאים בתרחיף ולמיונם. השיטה מאפשרת לאפיין את התאים הנבדקים על פי רמת ביטוי של אנטיגן ספציפי, הנמצא על גבי קרום התא או בתוך התא, על פי גודלם של התאים, מידת מורכבותם התוך-תאית וכן על פי מחזור התא שהם מצויים בו. כדי לאפיין את רמת ביטוי של אנטיגן מסוים, אוכלוסיית התאים מסומנת על ידי נוגדן ספציפי כנגד אותו אנטיגן, בעוד הנוגדן מסומן בחומר פלואורסצנטי. יתרה מכך, באמצעות המכשיר אפשר לאבחן תאים המבטאים חלבונים פלואורסצנטיים, דוגמת החלבון GFP. מלבד יכולות האבחון שהשיטה מאפשרת, הרי שבאמצעות מכשיר ה-Flow cytometer אפשר לבצע גם מיון סטרילי של התאים (sorting) למטרות טיפוליות או מחקריות על פי רמת הסימון הפלואורסצנטי של המדדים הנבדקים.


### 4.5.1 | עקרונות שיטת ה-Flow cytometry

Flow cytometer הוא מכשיר המאפשר לאפיין מגוון רחב של אוכלוסיות תאים, לפי גודל התאים ומידת מורכבותם על ידי שימוש בתרחיף תאים שאינם מסומנים בנוגדנים פלואורסצנטיים. עם זאת, במרבית המקרים אפיון אוכלוסיות תאים נעשה בצמוד לאפיון רמת ביטוי של אנטיגן מסוים על פני קרום התא או בתוך התא, ולשם כך יש לסמן את התאים באמצעות נוגדנים המכונים כנגד האנטיגנים הנבדקים, בעוד שהנוגדנים מסומנים בסמנים פלואורסצנטיים. ניתן לסמן אנטיגן אחד בלבד או מספר רב של אנטיגנים בעת ובעונה אחת – לפי יכולותיו של המכשיר המשמש לקריאה. הסימון הוא על ידי שימוש בכמה נוגדנים, שכל אחד מהם מאפשר קריאה של פלואורסצנציה באורך גל אחר.

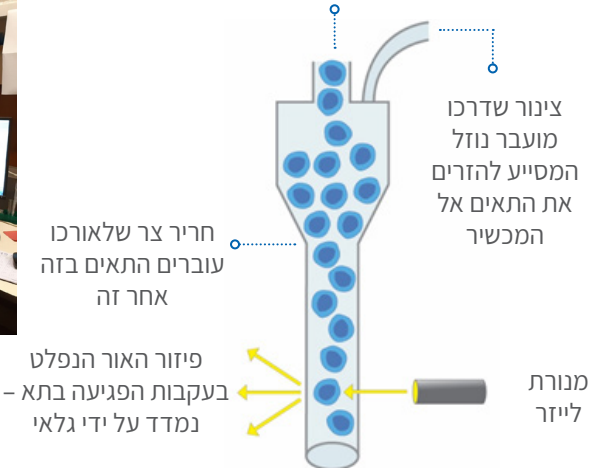
בשיטה זו, דגימת התאים שאליה נקשרו הנוגדנים המסומנים מוכנסת למכשיר ה-Flow cytometer. במכשיר נשאבים התאים ומועברים בעזרת נוזל הרצה דרך חריר דק, המאפשר מעבר של תא יחיד בכל פעם. במעבר מוקרן על התא אור באורך גל מסוים, באמצעות קרן לייזר (ר' תמונה 10 א'). לאחר פגיעתו בתא ובחומר הקשור לנוגדנים, האור הנפלט מוסט ונפלט באורך גל אחר, נמדד על ידי גלאי, מעובד על ידי תוכנת מחשב ומוצג על גבי צג המחשב (ר' תמונה 10 ב'). על פי מספר התאים שפלטו אורך גל מסוים ועל פי עוצמתו, אפשר להעריך את אחוז התאים המבטא את האנטיגן הנבדק ואת רמת ביטוי של האנטיגן הנבדק על כל תא.

**תמונה 10 (א-ב):**  
**Flow cytometry**

**א| מכשיר Flow cytometry (באוניברסיטת תל אביב)**



**ב| המכשיר ועקרון פעולתו**  
פְתַח שְׁדֵרְכוּ מוֹכֵנֶסֶת דְּגִימַת הַתַּאִים



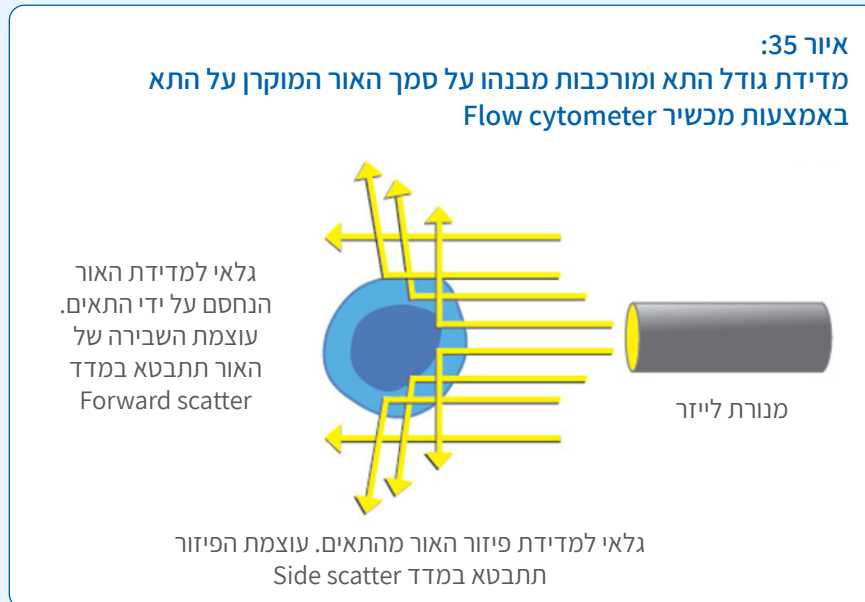
צינור שִׁדְרָכוּ מוֹעֵבֵר נוֹזֵל הַמְּסִייעַ לַהֲזָרִים אֶת הַתַּאִים אֶל הַמְּכַשֵּׁר

חֲרִיר צָר שֶׁלֹּארוֹכּוּ עוֹבְרִים הַתַּאִים בְּזֶה אַחַר זֶה

פִּיזוֹר הָאוֹר הַנִּפְלֵט בַּעֲקֻבוֹת הַפְּגִיעָה בַּתֵּא – נִמְדָּד עַל יְדֵי גְלָאִי

מְנוֹרַת לֵיזֵר

**התפלגות אוכלוסיית התאים על פי גודלם ומורכבות צורתם:** באיור 35 מוצגת דרך המדידה של המכשיר את גודלם ומורכבותם של התאים באמצעות מדידת האור הנבלע או המוסט על ידי גוף התא, בכל תא ותא. ככל שהתא גדול יותר – הוא יגרום שבירה עוצמתית יותר של אור המוקרן ישירות בחזיתו (Forward scatter). לעומת זאת, ציר y הוא מדד למורכבות צורת התא: ככל שמבנה התא מורכב יותר (לדוגמה - מכיל הרבה גרנולות), פיזור האור הנוצר בעקבות פגיעה בו – גדול יותר (Side scatter).



### אופן הצגת תוצאות האבחון של המכשיר וניתוחן

הנתונים המתקבלים על גבי הצג המחובר למכשיר מספקים ניתוחים של התפלגות אוכלוסיית התאים על פי המדדים שהוגדרו ועל סמך הסימון שבוצע. מיון התאים והפרדתם באמצעות המכשיר יכול להיעשות על פי מדדים של גודל, מורכבות התאים (גרעיניות) ומידת הפלואורסצנציה שפלטו. בתהליך ה-sorting, ההפרדה היא אוטומטית אל מבחנת איסוף נפרדת (ר' תמונה 10ב).

המידע המתקבל בעקבות הכנסה של דגימת תאים למכשיר מעובד לתרשימים המציגים את התפלגות אוכלוסיית התאים על פי הגדרות החוקר, בהתאם למטרות הבדיקה. להלן מובאות דוגמאות לדרכי הצגה אפשריות של התפלגות אוכלוסיית התאים.

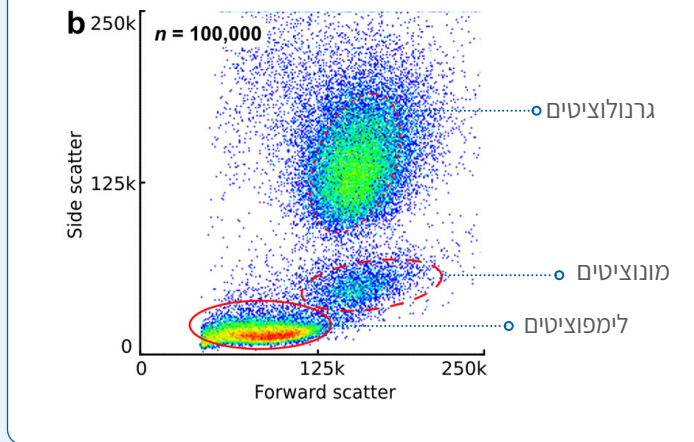
באיור 36 מוצגת דוגמה להתפלגות אוכלוסיית תאי הדם הלבנים שנדגמו בבדיקת דם היקפי (פריפרי), על פי מדד גודל התא (ציר x) ומורכבות מבנה התא (ציר y). בדוגמה מוצגות שלוש תתי-אוכלוסיות עיקריות של תאי דם לבנים:

**לימפוציטים:** תאים קטנים יחסית ובעלי מבנה פשוט יחסית, המהווים כ-45% מכלל תאי הדם הלבנים שבדוגמה (מסומנים באדום בקו רציף).

**גרנולוציטים:** תאים גדולים יחסית, בעלי מבנה מורכב, המהווים כ-40% מכלל תאי הדם הלבנים שבדוגמה (מסומנים בקו אדום מנוקד). תאים אלו הם תת-האוכלוסייה הגדולה ביותר של התאים הלבנים ומכילים בעיקר נוטרופילים.

**מונוציטים:** תאים גדולים יחסית, אך בעלי מבנה פחות מורכב מהגרנולוציטים. המונוציטים משקפים כ-4% מכלל תאי הדם הלבנים שבדוגמה (מסומנים בקו אדום מקווקו).

**איור 36:**  
 התפלגות תאי הדם הלבנים מדם היקפי,  
 לפי גודל התא ומורכבות מבנה

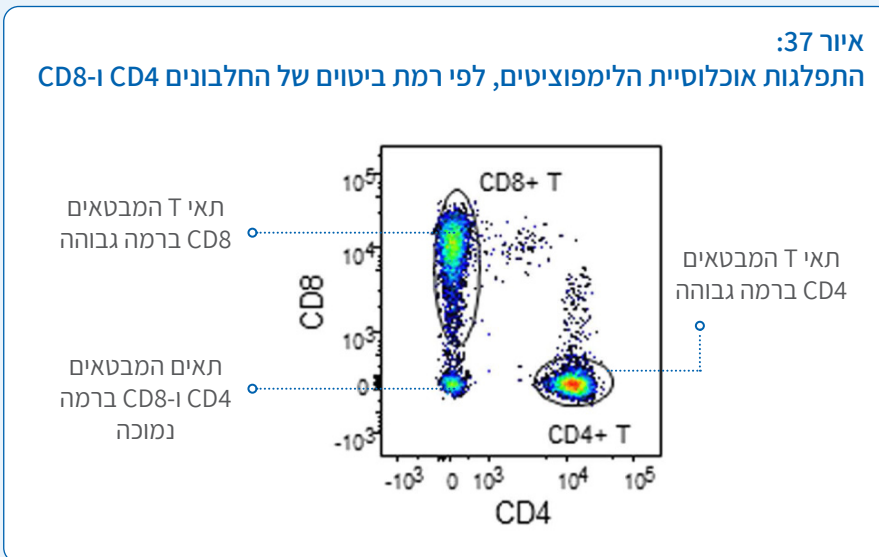


נתוני התפלגותם של תאי הדם הלבנים מסייעים באבחון מצבי תחלואה מגוונים, המאופיינים בשינוי בשיעור היחסי של סוג מסוים של תאי דם לבנים מכלל אוכלוסיית תאי הדם הלבנים. נוסף על אבחון סוגי התאים לפי גודלם ומורכבותם, מכשיר ה-Flow cytometer מאפשר מדידה מדויקת יותר של תתי-אוכלוסיות תאים, באמצעות נוגדנים המסומנים בסמנים פלואורסצנטיים, והמכוונים כנגד האנטיגנים המאפיינים תתי-אוכלוסיות תאים אלו. שיטה זו משמשת לאפיון תתי-אוכלוסיות תאים מקרב אוכלוסיית תאי הדם הלבנים הכלולים בדגימת הדם.

**הצגת התפלגותם של תתי-אוכלוסיית התאים הלימפוציטיים, על פי סימונם באמצעות נוגדנים פלואורסצנטיים:** איור 37 מציג אפיון נפרד של תאי הלימפוציטים שנדגמו, כתת-אוכלוסיית תאים בפני עצמה, בתוך אוכלוסיית תאי הדם הלבנים, וזאת על פי החלבונים שתאי הלימפוציטים מבטאים.

התאים סומנו בנוגדן פלואורסצנטי כנגד מולקולת **החלבון CD4** המאפיינת בעיקר לימפוציטים מסוג T-מסייע, וכן סומנו התאים בנוגדן פלואורסצנטי שצבעו שונה, כנגד מולקולת **החלבון CD8** המאפיינת תאי לימפוציטים מסוג T-ציטוטוקסי.

**איור 37:**  
 התפלגות אוכלוסיית הלימפוציטים, לפי רמת ביטויים של החלבונים CD8 ו-CD4



איור 37 מדגים את התפלגות אוכלוסיית הלימפוציטים שנבדקו, לפי רמת הביטוי של המולקולות CD4 ו-CD8. ציר x באיור מבטא את מידת סימונם של התאים בנוגדנים מסומנים בחומרים פלואורסצנטיים כנגד החלבון CD4; ציר y מבטא את מידת סימונם של התאים בנוגדנים מסומנים בחומרים פלואורסצנטיים המזוהים בצבע שונה, כנגד החלבון CD8. האיור מאפשר להסיק:

1. מהו שיעורם של תאי הלימפוציטים המבטאים את מולקולת CD8 או לחלופין את מולקולת CD4, מכלל תאי הלימפוציטים שנדגמו.
2. מהו שיעורם של תאי הלימפוציטים המבטאים הן את מולקולת CD8 והן את מולקולת CD4, מכלל תאי הלימפוציטים שנדגמו.
3. מהו שיעורם של התאים שאינם מבטאים כלל את המולקולות CD4 ו-CD8, מכלל תאי הלימפוציטים שנדגמו.
4. מהי רמת ביטוי המולקולות CD4 ו-CD8 על תאי הלימפוציטים בתת-אוכלוסיות התאים השונות.

[עקרון פעולת מכשיר ה-Flow cytometer](#)



## 4.5.2 | יישומי שיטת ה-Flow cytometry

שיטת ה-Flow cytometry משמשת לכמה יישומים באבחון הרפואי ובמחקר, ובעיקר: תתי-אוכלוסיות תאים וקביעת רמת ביטוי של חלבון מסוים בתאים, וכן הפרדת תאים לצורך גידולם בנפרד. דוגמאות:

1. **זיהוי ואבחון של התפלגות אוכלוסיית תאים לתתי-אוכלוסיות, לפי רמת ביטוי של האנטיגן ומבנה התא:** שיטה זו, כפי שהודגמה ביחס לתאי דם לבנים, מאפשרת אבחון ספציפי של מצבים פתולוגיים המתאפיינים בשינוי שנוצר בחלוקה של אוכלוסיית התאים לתתי-אוכלוסיות, כפי שמתרחש במצבים דלקתיים, בהדבקה נגיפית ובסרטן הדם. יתרה מכך, שיטה זו משמשת רבות למחקר של אוכלוסיות תאים מגוונות, המבטאות אנטיגנים שונים ברמת ביטוי שונה.

2. **הפרדת תאים לפי רמת ביטוי של אנטיגן מסוים (Sorting):** יצירה של אוכלוסיות תאים, המוגדרות לפי רמת הביטוי של אנטיגן מסוים, מאפשרת מחקר ממוקד בתת-אוכלוסיית תאים מסוימת, למאפייניה. דוגמה בולטת לכך היא הפרדה של אוכלוסיית תאי גזע המאופיינים באנטיגן ספציפי – כגון תאי גזע המטופויאיטיים, המבטאים את האנטיגן CD34 – מתוך דם היקפי (פריפרי), למטרות אבחון ומחקר. במקרה זה, תאי הדם ההיקפיים מסומנים בנוגדן פלואורסצנטי המזהה אנטיגן של תאי גזע (CD34), ועל פי מידת הפלואורסצנציה מופרדת תת-אוכלוסייה זו מתאי הדם האחרים באופן סטרילי באמצעות המכשיר.

ככלל, תאים המופרדים בתהליך מיון (Sorting) ניתנים לגידול במעבדה לשם ריבויים, כדי לבצע בהם שינויים גנטיים או לצורך שמירתם בהקפאה עד לשימוש בהם במידת הצורך.

בהקשר זה, חשוב לציין כי לצורך הפרדת תאים למטרות טיפול רפואי, כגון השתלת תאים, אפשר להשתמש גם באמצעי שאינו מסתמך על Flow cytometry. בשיטה חלופית זו, נעשה שימוש בנוגדנים ספציפיים שאליהם קשור חלקיק מגנטי. סימון התאים המבטאים אנטיגן ספציפי בנוגדן המסומן במגנט יאפשר את הפרדתם משאר התאים בעת העברתה של אוכלוסיית התאים בעמודה המכילה שדה מגנטי.

## שאלות סיכום לפרק 4: אימונודיאגנוסטיקה – אבחון באמצעות נוגדנים

### ? שאלה 51

איזו מהשיטות האימונודיאגנוסטיות משמשת לבדיקת רקמות שלמות?

- א. ELISA
- ב. Western blot
- ג. Flow cytometry
- ד. אימונופלוואורסצנציה (FIA)

### ? שאלה 52

איזו מהשיטות האימונודיאגנוסטיות אינה מאפשרת בדיקת תאים שלמים?

- א. ELISA
- ב. הצמחה
- ג. Flow cytometry
- ד. אימונופלוואורסצנציה (FIA)

### ? שאלה 53

נוגדן שניוני הוא לרוב נוגדן רב-שבטי, שכן הנוגדן הרב-שבטי מאפשר:

- א. להגביר את הספציפיות של הנוגדן הראשוני לאנטיגן
- ב. להגביר את עוצמת האות המתקבל בבדיקה
- ג. למנוע מכמה נוגדנים שניוניים להיקשר לנוגדן הראשוני
- ד. למנוע קישור לא-ספציפי למשטח הבדיקה

### ? שאלה 54

בסימון עקיף, נוגדן שניוני נקשר:

- א. ישירות לאנטיגן הנבדק
- ב. למשטח הבדיקה שעל גביו מבוצע הניסוי
- ג. לנוגדן הראשוני הנקשר לאנטיגן הנבדק
- ד. לאנזים הקשור לאנטיגן הנבדק

### שאלה 55 ?

באיזו מהשיטות האימונודיאגנוסטיות משתמשים בנוגדן שאינו מסומן כלל?

- א. הצמחה
- ב. ELISA
- ג. Western blot
- ד. אימונופלווארסצנציה (FIA)

### שאלה 56 ?

באילו שתי שיטות אימונודיאגנוסטיות יש להוסיף מצע (סובסטרט) בשלב הגילוי?

- א. הצמחה, ELISA
- ב. אימונופלווארסצנציה (FIA), Flow cytometry
- ג. Western blot, Flow cytometry
- ד. Western blot, ELISA

### שאלה 57 ?

הופאה חושדת כי מטופל לוקה בסוג של מיאלומה המתאפיינת בהתרבות בלתי מבוקרת של תאי פלסמה בגופו.

1. איזו שיטה אימונודיאגנוסטית תשמש את הרופאה תחילה כדי לאפיין את שיעור תאי המיאלומה בדמו של המטופל?

- א. הצמחה
- ב. IHC
- ג. Flow cytometry
- ד. ELISA

2. נמק את קביעתך.



## שאלה 58 ?

נגיף הצהבת (דלקת כבד נגיפית, Hepatitis) מסוג A מועבר באמצעות מזון נגוע או מים מזוהמים. המחלה עצמה מתפרצת כעבור שבועות אחדים, ואחד מביטוייה החיצוניים הוא גוני צהוב בעיניים ובעור. למרפאה הגיעו שלושה מטופלים המתאפיינים בתסמינים התואמים לצהבת. הרופא הפנה אותם לבדיקת דם בשיטת ELISA, לגילוי הימצאותם של נוגדנים כנגד נגיף הצהבת מסוג A.

להלן תוצאות הבדיקה, המשקפות את רמת הנוגדנים כנגד הנגיף שנמצאה בגופו של כל אחד משלושת המטופלים:

מטופל א'	מטופל ב'	מטופל ג'	ביקורת חיובית	ביקורת שלילית
1.05	1.75	0.2	1.35	0.121

1. על פי תוצאות הבדיקה בשלושת המטופלים, האם אחד מהם נושא את נגיף הצהבת מסוג A, ואם כן – מיהו?

א. מטופל א' נושא את הנגיף בוודאות

ב. מטופל ב' נושא את הנגיף בוודאות

ג. מטופל ג' נושא את הנגיף בוודאות

ד. אף אחד מהמטופלים אינו נושא את הנגיף

2. כיצד אפשר להסביר את הממצא שלפיו רמת הנוגדנים שנמצאה במטופל א' גבוהה מזו של הביקורת השלילית, אך נמוכה מזו של הביקורת החיובית?

**הסבר 1:** מטופל א' נדבק בעברו בנגיף הצהבת מסוג A, ובמערכת החיסון שלו נותר זיכרון חיסוני כנגד הנגיף.

**הסבר 2:** מטופל א' נחשף לנגיף זמן קצר יחסית לפני הבדיקה, ולכן רמת הנוגדנים בגופו כנגד הנגיף נמוכה יחסית.

א. רק הסבר 1 נכון

ב. רק הסבר 2 נכון

ג. שני ההסברים עשויים להיות נכונים

ד. שני ההסברים אינם נכונים

### ? שאלה 59

מה ההבדל בין הביקורת החיובית לביקורת השלילית בניסוי המתואר בשאלה 58?

- א. בביקורת החיובית אין מוסיפים לבארית הבדיקה נוגדנים ספציפיים כנגד הנגיף, ואילו בביקורת השלילית הם מוסיפים.
- ב. בביקורת החיובית מוסיפים לבארית הבדיקה נוגדנים ספציפיים כנגד הנגיף, ואילו בביקורת השלילית הם אינם מוסיפים.
- ג. בביקורת החיובית מוסיפים לבארית הבדיקה את האנטיגן של הנגיף, ואילו בביקורת השלילית אין מוסיפים את האנטיגן של הנגיף.
- ד. בביקורת החיובית אין מוסיפים לבארית הבדיקה את האנטיגן של הנגיף, ואילו בביקורת השלילית מוסיפים את האנטיגן של הנגיף.

### ? שאלה 60

הסבירו מדוע אין לבצע הצמחה לצורך אבחון אנטיגנים תוך-תאיים או אנטיגנים המצויים ברמת ביטוי מזערית על פני קרום התא.

### ? שאלה 61

דם מסוג AB אינו מתאים לעירוי עבור בעלי סוג דם B, מאחר שלבעלי סוג דם B יש:

- א. אנטיגנים מסוג B בתאי הדם
- ב. נוגדנים כנגד אנטיגן B בדם
- ג. נוגדנים כנגד אנטיגן A בדם
- ד. אנטיגנים מסוג A בתאי הדם

### ? שאלה 62

על סמך הממצא שלפיו רמת ביטוי של החלבון x על פני קרום התא בתאי סרטן השד עשויה להצביע על חומרת המחלה – החליטה רופאה המטפלת בחולות סרטן השד לאבחן את תאי הגידול של כל מטופלת חדשה בשיטת האימונופלוואורסצנציה (FIA). לשם כך נדגמו תאי גידול לביופסיה, והתאים סומנו בנוגדן פלואורסצנטי המכוון כנגד חלבון x.

הסבירו מה ההבדל בביצוע סימון של תאים עם נוגדנים פלואורסצנטיים בסימון ישיר לעומת סימון עקיף ואיזה סוג סימון יתן לרופאה תוצאת בדיקה רגישה יותר? נמקו את קביעתכם.

### שאלה 63 ?

אחד השלבים בשיטת Western blot הוא חסימת הממברנה בחלב או בחלבון BSA. מהי מטרתו של שלב זה?

- א. הגברת הקישור של הנוגדן לממברנה
- ב. מניעת הקישור הבלתי ספציפי של הנוגדן לממברנה
- ג. מניעת הקישור הספציפי של הנוגדן לאנטיגן
- ד. הגברת הקישור הספציפי של הנוגדן לאנטיגן

### שאלה 64 ?

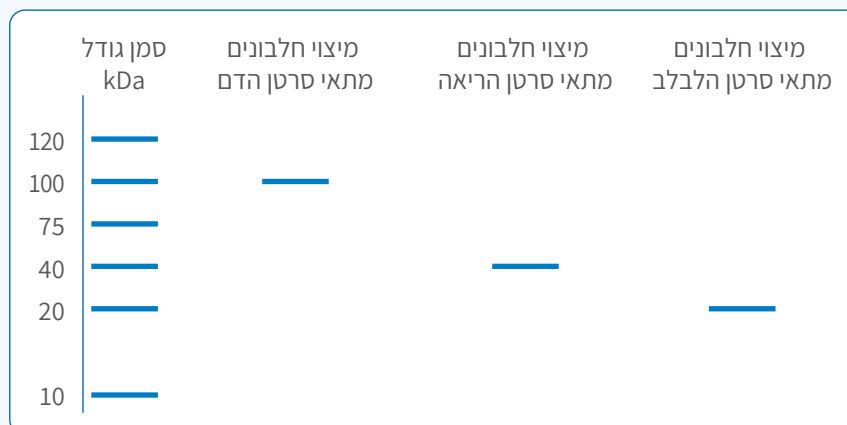
אם מבצעים למולקולת הנוגדן דנטורציה עם מרקפטואתנול ומריצים אותה בג'ל אקרילאמיד, כמה בנדים מתקבלים ומה גודלם?

- א. בנד אחד בגודל 150kD
- ב. שני בנדים, אחד בגודל 25kD והשני בגודל 50kD
- ג. שלושה בנדים, אחד בגודל 25kD, השני בגודל 50kD והשלישי בגודל 75kD
- ד. שלושה בנדים, אחד בגודל 25kD, השני בגודל 50kD והשלישי בגודל 100kD

### שאלה 65 ?

חוקרים גילו כי מוטציה ספציפית בחלבון A אופיינית לסוג מסוים של סרטן הדם. החוקרים מעוניינים לבחון האם נוגדן חד-שבטי המזהה את המוטציה שעל חלבון A יזהה מוטציות דומות על החלבונים הנוספים B ו-C, האופייניים לתאים סרטניים של הלב לב והריאה, בהתאמה.

לשם כך הפיקו החוקרים חלבונים מתאי סרטן שונים והריצו אותם בג'ל אקרילאמיד. לאחר העברת החלבונים לממברנה, ביצעו החוקרים מבחן Western blot בעזרת הנוגדן הידוע כי הוא מזהה את המוטציה שעל חלבון A. להלן התוצאות שהתקבלו:



(1) על פי תוצאות ה-Western blot, מה גודלם של החלבונים A, B ו-C ביחידות kDa?

(2) כיצד ייתכן שאותו נוגדן מזהה חלבונים בגדלים שונים?

### שאלה 66 ?

המכשיר Flow cytometer מאפשר למדוד את גודל התאים ומורכבותם על פי שבירת האור המוקרן על תאים אלו במעבר שלהם במכשיר. הסבירו כיצד עשוי מידע זה לשמש לקביעת האוכלוסיות השונות של תאי הדם הלבנים.

### שאלה 67 ?

הסבירו מדוע כדי לזהות סוגים שונים של לימפוציטים בדגימת דם יש להשתמש בסימון התאים בנוגדנים פלואורסצנטיים, ואין להסתפק במדידת גודל התאים וצורתם.

### שאלה 68 ?

האם באמצעות מכשיר Flow cytometer אפשר לזהות לימפוציטים ייחודיים משבטים שונים של תאי B המכונים כנגד אנטיגנים שונים? הסבירו את קביעתכם.

### שאלה 69 ?

הסבירו את ההבדל באופן קריאת התוצאות בין שיטת הסימון הפלואורסצנטי לבין שיטת הסימון האנזימטי של חתכי רקמות תאים.



# פרק 5: ריפוי מחלות באמצעות מרכיבי מערכת החיסון ואימונתרפיה

## הקדמה

הבנה מחקרית מעמיקה של מערכת החיסון אפשרה פיתוח יישומים אימונולוגיים המשתמשים במרכיבי המערכת לצורכי ריפוי וטיפול במגוון רחב של מחלות, בהתאם למנגנון התפתחותה של המחלה. המושג אימונתרפיה מורכב מצירוף משמעותן של שתי מילים: "אימונו", הקשורה למערכת החיסון, ו"תרפיה", שפירושה טיפול. המושג אימונתרפיה משמש כיום בעיקר בהקשרים של טיפול במחלות סרטן. מעבר לדיון הכללי במבחר השיטות המשתמשות במרכיבי מערכת החיסון לטיפול במחלות, פרק זה יתמקד במיוחד בשיטות הטיפול האימונתרפיות שפותחו בעשרות השנים האחרונות לטיפול במחלת הסרטן לסוגיה.

### שיטות הטיפול האימונולוגיות שיוצגו בפרק הן בעלות שתי מטרות עיקריות:

1. השגת תגובה חיסונית עוצמתית ויעילה לאורך זמן, ובכלל זה גם זיכרון חיסוני, באמצעות הפעלת מערכת החיסון ורתימתה הספציפית כנגד גורם המחלה.
  2. חיזוק והשלמה לפעולתה של מערכת החיסון במקרים של מחלה בעלת פוטנציאל קטלני, כשעוצמת פעילותה של מערכת החיסון אינה מספקת. מטרה זו מתממשת באמצעות שימוש בנוגדנים המיוצרים בשיטות מעבדתיות והפועלים כנגד אנטיגנים ספציפיים.
- מעבר לתרופות שפותחו ואושרו עד כה, מחקרים רבים בעולם מצויים כיום בשלבי פיתוח מתקדמים לבחינת יעילותן ובטיחותן של תרופות ביולוגיות. מדובר בתרופות המבוססות על חלבונים ספציפיים המפעילים את מרכיבי מערכת החיסון, ובכלל זה תרופות אימונתרפיות לריפוי סוגי סרטן רבים. כמו כן מצויים בשלבי פיתוח חיסונים ונוגדנים חד-שבטיים. השוק העולמי של תרופות אלו מתפתח בהתמדה, וכבר כיום היקף המכירות השנתי בשוק זה מגיע לכדי מאות מיליארדי דולרים בשנה.
- בקיזור מוצגת תחזית שיווק על סמך מצב פיתוח המתקדם של תרופות ביולוגיות מבוססות נוגדנים חד-שבטיים, חלבונים הפועלים במערכת החיסון וחיסונים. התחזית פורסמה בשנת 2013 ומתייחסת לזינוק במכירות בשנת 2017, בהשוואה לשנים הקודמות המציגות עלייה מתונה יחסית אך מתמדת.

[תרשים המתאר את הצמיחה המוערכת בהיקף המכירות של תרופות ביולוגיות - חלבונים תרפויטיים, נוגדנים חד-שבטיים וחיסונים - בקנה מידה של השוק העולמי \(2009-2017\)](#)



## 5.1 | החיסון הפעיל והחיסון הסביל

### 5.1.1 | עקרון פעולתו של החיסון הפעיל, יתרונותיו וחשיבותו לבריאות הציבור

עקרון החיסון הפעיל (אקטיבי) מתבסס על תגובות החיסון הראשונית והשניונית, כפי שתוארו בתת-פרק 1.7. בעקבות חדירתו של אנטיגן זר לגוף, לדוגמה נגיף מחולל מחלה, תופעל מערכת החיסון ותעורר יצירת שבטים ספציפיים של תאי B שיתמיינו לתאי זיכרון ולתאי פלסמה מפרישי נוגדנים ספציפיים כנגד האנטיגן. חשיפה חוזרת של הגוף ושל תאי הזיכרון הספציפיים לאנטיגן זה תעורר התמיינות וריבוי מואץ של תאים אלו, ליצירת תאי פלסמה רבים המפרישים כמות עצומה של נוגדנים ספציפיים בזמן קצר ומאפשרים הגנה משופרת מפני האנטיגן. תהליכים דומים של הפעלת זיכרון חיסוני יחולו בעת חדירת נגיף, ויובילו ליצירת תאי זיכרון מסוג תאי T-ציטוטוקסיים.

למען בריאות הציבור ובשם ההגנה על כלל האוכלוסייה מפני מגפות ותחלואה קשה הכרוכה בסיבוכים ובשיעורי תמותה גבוהים – פותחה במדינות רבות תכנית חיסונים המיושמת לכלל האוכלוסייה. בישראל ממונה משרד הבריאות על יישום תכנית החיסונים, פיתוחה ועדכונה. מטרת תכנית החיסונים היא ללוות כל תושב במדינה משעת לידתו, כדי להגן על הפרטים באוכלוסייה מפני מחלות מסכנות חיים והסיבוכים הכרוכים בהן. כך, מצליח מערך החיסונים לצמצם עד לכדי שיעורים אפסיים את ההידבקות במחלות שנחשבו בעבר מגפות המוניות ואף קטלניות בקרב חלקים גדולים מהאוכלוסייה. החיסונים בולמים כמעט לחלוטין את התפשטותן של מחלות זיהומיות, ויש אף נגיפים שיייתכן כי ייעלמו לחלוטין, כפי שקרה במקרה של נגיף האבעבועות השחורות בשנות ה-70 של המאה ה-20. צמצום סיכויי ההידבקות באוכלוסייה המחוסנת הוא בעל השפעה מגוונת על בריאות הציבור בכללותו, ובייחוד ביחס לאוכלוסיות בעלות מערכת חיסון מוחלשת, מדוכאת – או בלתי מפותחת, במקרה של תינוקות. זאת נוסף על הלוקים במחלות רקע המונעות מהם להתחסן או העלולים לפתח מחלות קשות במיוחד. לפיכך, חשוב להדגיש כי התחסנותה של כלל האוכלוסייה היא כפולת מטרה: הגברת חסינותו של הפרט המוחסן עצמו מפני מחלות, לצד הגברת חסינותו של הציבור בכללותו.

שני סוגים של תרכיבי החיסון הפעיל הניתנים כיום בשגרה, בהמלצת משרד הבריאות, הם: (1) תרכיב המכיל אנטיגן חי מוחלש או מומת; (2) תרכיב המכיל אנטיגנים חלבוניים שמקורם בגורם המחלה שהוכח כי הם יוצרים תגובה חיסונית מספקת כנגד אותן מחלות.

### תרכיבי החיסון המכילים נגיף מוחלש או לא פעיל

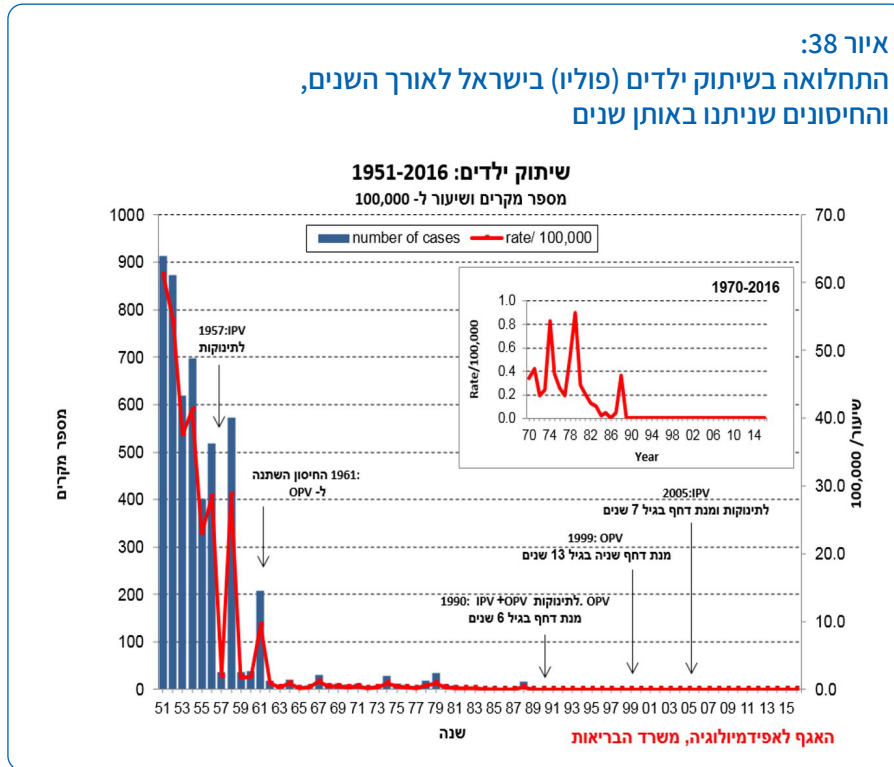
דוגמה לתרכיבים אלו, הוא החיסון נגד נגיף הפוליו. נגיף זה מצוי בצואה ומועבר מאדם לאדם בעיקר בעקבות היחשפות לזיהום במי בויב. הנגיף תוקף את מערכת העצבים המרכזית, גורם חולשה או שיתוק שרירים א-סימטרי בהתפתחות הגפיים (שיתוק ילדים), ואף כרוך בסכנת חיים ניכרת.

כיום יש שני סוגים של תרכיבי חיסון נגד הנגיף: תרכיב נגיף פוליו לא פעיל (Inactivated Polio Vaccine, IPV) ע"ש Salk, ותרכיב נגיף פוליו מוחלש ע"ש Sabin, הניתן בטיפות דרך הפה (Oral Polio Vaccine, OPV). כך, בעקבות פיתוח החיסון נגד הנגיף בשנות ה-50 של המאה ה-20, פחת שיעור ההידבקות במחלה במערב באורח קיצוני (ר' נתוני התחלואה בנגיף הפוליו בישראל, איור 38). עד שנת 2004 היה החיסון בנגיף פוליו מוחלש בישראל חלק מתכנית חיסוני השגרה של משרד הבריאות, אך עקב חשש להידבקות בנגיף בקרב בעלי מערכת חיסון ירודה – הופסק מתן החיסון. בשנת 2013, בעקבות גילוי נגיפי פוליו בבדיקות שיעור משרד הבריאות במתקני מי שפכים בישראל, הוחלט להחזיר לתכנית חיסוני השגרה את תרכיב הנגיף המוחלש.

איור 38 מציג את הירידה הדרסטית במספר המקרים של תחלואה בשיתוק ילדים בישראל בעקבות מתן שני סוגי החיסונים – מכ-900 מקרים לשנה בתחילת שנות ה-50 להיעלמות כמעט מוחלטת של המחלה בשלושת העשורים האחרונים.

איור 38:

התחלואה בשיתוק ילדים (פוליו) בישראל לאורך השנים, והחיסונים שניתנו באותן שנים



### תרכיבי חיסון הניתנים כיום בשגרה בישראל

במסגרת חיסוני השגרה, תרכיב החיסון כנגד הנגיף המחולל דלקת כבד נגיפית צהבת מסוג B (Hepatitis B Virus, HBV) וכן תרכיב החיסון כנגד נגיף הפפילומה (Human Papilloma Virus, HPV) שניהם **תרכיבים רקומביננטיים** שנמצאו יעילים כמעוררי התגובה החיסונית הרצויה. התרכיבים הרקומביננטיים אינם מכילים את הנגיף בשלמותו אלא את חלבוני המעטפת שלו. תרכיבים אלה מיוצרים בתהליך של הנדסה גנטית.

מאמר חשוב שפורסם בשנת 2009 בסוגיית החיסונים בכתב העת הרפואי The New England Journal of Medicine בחן את מדיניות חובת החיסונים לילדים הנהוגה בארה"ב לפי חוק. המאמר מציג מחקר שנעשה בארה"ב, המראה כי גם עלייה קטנה בשיעור הילדים שאינם מחוסנים מגדילה באורח ניכר את שיעור התחלואה במחלות זיהומיות כגון חצבת ושעלת.

בניגוד למצב בארה"ב, בישראל תכנית החיסונים היא הנחיה של משרד הבריאות לחיסון כלל ילדי ישראל, אך אין זו בגדר חובה לפי חוק. עם זאת, ב-2018, בעקבות התפרצות מחלות נגיפיות, ובהן חצבת, באזורים הידועים בשיעורי התחסנות נמוכים של האוכלוסייה בישראל, חוקק בכנסת חוק להגברת השקיפות ביחס לנתונים סטטיסטיים על התחסנות האוכלוסייה, בין השאר בפילוח שיעורי המתחסנים לפי יישובים ואזורים. החוק אף נוקט פעולות עונשין כלפי הורים המסרבים לחסן את ילדיהם.

כתבה: [סכנת ההימנעות מחיסונים, באתר מכון דוידסון, מכון ויצמן](#)

מאמר: [מדיניות החיסונים בארה"ב, מתוך The New England Journal of Medicine, 2009](#)



בתכנית חיסוני השגרה של משרד הבריאות לילדי ישראל כלולים חיסונים נגד מחלות רבות, ובהן: צהבת, אדמת, חזרת, פוליו, דיפתריה, טטנוס, שעלת, חצבת ואבעבועות רוח.

בטבלה 6 שלהלן מוצגת המלצת משרד הבריאות לחיסוני השגרה בגיל הילדות משנת 2016 ואילך, הניתנים לתושבי ישראל במסגרת סל הבריאות הממלכתי, מינקות בתחנות טיפת חלב ועד לסיום הלימודים בבית ספר.

## טבלה 6:

לוח חיסוני השגרה בישראל, מעודכן לספטמבר 2016, משרד הבריאות

משרד הבריאות  
האגף לאפידמיולוגיה

**לוח חיסוני השגרה בגיל הילדות ובבתי-הספר, ספטמבר 2016**

ה ח י ס ו ן	ג י ל										
	שנה ראשונה			שנה שניה		שנה שלישית	בית - ספר				
	בלידה (בב"ח)	1 חודש	2 חודשים	4 חודשים	6 חודשים	12 חודשים	18 חודשים	24 חודשים	6 שנים (כתה א')	7 שנים (כתה ב')	13 שנים (כתה ה')
דלקת כבד B	HBV										
שיתוק ילדים						IPV	IPV			IPV	
פלצת-אסכרה-שעלת						bOPV*	bOPV*				
ה. אינפלואנזה b							Hib	Hib			
פנוימוקוק							PCV13	PCV13			
רוטה							Rota	Rota			
חצבת-חזרת-אדמת							MMR	MMR			
אבעבועות רוח							Var	Var			
דלקת כבד A							HAV	HAV			
פפילומה										HPV**	
שפעת										Influenza	


**הערה:** התרכיבים IPV, DTaP, Hib, MMR, Varicella ניתנים בשילובים שונים הזמינים באותה עת בישראל.

Hepatitis B Vaccine	HBV	תרכיב נגד דלקת כבד B
Inactivated Polio Vaccine	IPV	תרכיב מומת נגד שיתוק ילדים
Bivalent Oral Polio Vaccine	bOPV	תרכיב ביוולנטי חי-מוחלש נגד שיתוק ילדים
Diphtheria-Tetanus-Acellular Pertussis Vaccine pediatric	DTaP	תרכיב נגד אסכרה-פלצת-שעלת (אסולרי) לילד
Tetanus-Diphtheria-Acellular Pertussis Vaccine adult	Tdap	תרכיב נגד אסכרה-פלצת-שעלת (אסולרי) למבוגר
Haemophilus influenzae b Vaccine	Hib	תרכיב נגד המופילוס אינפלואנצה b
Measles-Mumps-Rubella Vaccine	MMR	תרכיב נגד חצבת-חזרת-אדמת
Varicella Vaccine	Var	תרכיב נגד אבעבועות רוח
Hepatitis A Vaccine	HAV	תרכיב נגד דלקת כבד A
Pneumococcal Conjugate Vaccine	PCV13	תרכיב מצומד נגד זיהומים פנוימוקוקיים
Rotavirus Vaccine	Rota	תרכיב נגד זיהום הנגרם ע"י נגיף רוטה
Human Papillomavirus Vaccine	HPV	תרכיב נגד זיהום הנגרם ע"י נגיף פפילומה באדם
Influenza Vaccine	Influenza	תרכיב נגד שפעת

\*שתי מנות חיסון חי-מוחלש נגד שיתוק ילדים (פוליו) בתרכיב bOPV יינתנו בהמשך התמודדות עם חדירת נגיף פוליו פרא לישראל.  
\*\*יינתן ב-2 מנות לבנים ולבנות.

אימונולוגיה בשירות הביטכנולוגיה | פרק 5: ריפוי מחלות באמצעות מרכיבי מערכת החיסון ואימונת-פריה

- [תדריך החיסונים של משרד הבריאות](#)
- [תשדיר הסברה של משרד הבריאות לעידוד ההתחסנות כנגד נגיף הפפילומה.](#)

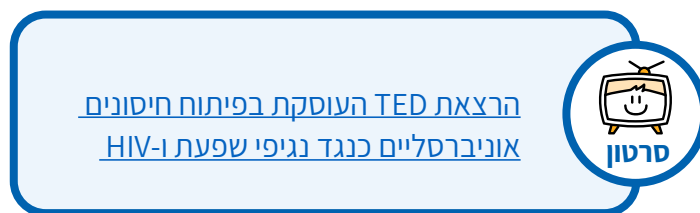




החיסונים ניתנים לרוב לפי פרוטוקול חיסון המונה 2-3 הזרקות לפחות, במטרה ליצור זיכרון חיסוני מיטבי וארוך טווח. פרוטוקול החיסון נקבע על סמך מחקרים שבדקו את עוצמת החיסון בקרב האוכלוסייה לאורך שנים. בכל כמה שנים מתבצע עדכון של המידע וההמלצות לגבי סוגי החיסונים הרצויים ואופן ביצועם, בהתאם למחקרים המובילים בתחום.

בשונה מהחיסונים הכלולים בתכנית חיסוני השגרה בילדות, יש מחלות, כגון שפעת, שעדיין לא פותחו כנגדן חיסונים יעילים דיים למנוע הידבקות בהן בעתיד. הסיבה העיקרית לכך היא שאותם נגיפים מחוללי מחלות משתנים בהתמדה באמצעות מוטציות אקראיות. השינויים מתבטאים בחלבוני הנגיפים, כלומר באנטיגנים שאליהם יכולה להיות מכוונת התגובה החיסונית. לכן, אמנם נוצרת תגובה חיסונית בגוף, אך כיוון שנגיף שעבר שינוי עלול להיות בלתי מוכר למערכת החיסון ולפתח תגובה חיסונית שניונית, הוא עלול לשרוד ולחולל מחלה. במקרה של מחלת השפעת, בכל שנה מפתחים תרכיבי חיסון המכילים כמה זנים חדשים של הנגיף שהתגלו, והמדענים צופים כי הם הזנים העיקריים העתידיים לתקוף באותה שנה בעולם. עם זאת, מדובר בפתרון ביניים זמני עד לפריצת דרך של ממש שתאפשר התמודדות יעילה יותר וארוכת טווח כנגד המוטציות של הנגיף.

מצב קיצוני יותר נצפה בהקשר של מחלת האיידס (Acquired Immune Deficiency Syndrome, AIDS), תסמונת הכשל החיסוני הנרכש), שבה הנגיף (Human Immunodeficiency Virus, HIV) עובר מוטציות רבות ומהירות. עד כה לא פותח חיסון יעיל כנגד המחלה, ולפיכך כיום מושקע מאמץ אדיר לפתח תרכיבי חיסון כנגד הרכיבים החלבוניים בנגיפים, שאינם משתנים עקב מוטציות תכופות. השאיפה היא שחיסונים אלו יספקו מענה כחיסון אוניברסלי, המשיג תגובה חיסונית כנגד הנגיפים גם לאחר השתנותם, וכך מאפשר זיכרון חיסוני בעל השפעה ארוכת טווח.



## 5.1.2 | עקרון פעולת החיסון הסביל

חיסון סביל (פסיבי) הוא חיסון המכיל נוגדנים שהוכנו במעבדה, כדי שיזהו את האנטיגן הזר בגוף ויסייעו למערכת החיסון לנטרל אותו ולהפעיל מנגנוני הרס שונים (ר' פרק 1.6). חיסון מסוג זה אינו יוצר כלל זיכרון חיסוני כנגד האנטיגן, ולכן יש לתת אותו כל עוד המחלה נמשכת בגוף, וגם במצבים שהמחלה שבה ותוקפת. החיסון הסביל ניתן כיום כתרופה למגוון גדול של מחלות מסכנות חיים, ובהן מחלות זיהומיות, אך גם לטיפול בסוגים שונים של סרטן ובמחלות אוטואימוניות המתאפיינות בתגובה חיסונית שגויה כנגד גורמים עצמיים של הגוף.

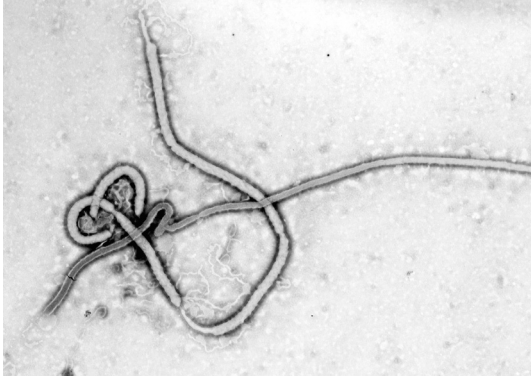
הנוגדנים המשמשים לחיסון סביל הם כמעט תמיד נוגדנים אנושיים או "מאונשים", ולכן מערכת החיסון אינה מזהה אותם כגורם זר, ואינה מפעילה תגובה חיסונית יעילה כנגדם. עם זאת, תהליך פיתוחן של תרופות המבוססות על חיסון סביל הוא מורכב וארוך מאוד. הנוגדנים מיוצרים במפעלים ביוטכנולוגיים לפי תקנים קפדניים של בקרת איכות, ואף תהליכי המחקר, הפיתוח והייצור מחייבים ציוד יקר ערך וחומרים שעלותם גבוהה. עלות ייצורו הגבוהה של הנוגדן מזניקה את מחירן של התרופות הללו, ובהתאם – הן ניתנות בעיקר במצבים של סכנת מוות ממשית.

## 5.1.3 | דוגמאות לייצור של חיסון סביל והשימוש בו

נגיף האבולה (Ebola Virus, EBO), המחולל את מחלת האבולה, הוא נגיף חוטי ממשפחת הפילו (Filoviridae). נגיף זה מכיל מולקולת רנ"א-שליח שאותה הוא מחדיר לתא המודבק. הנגיף תוקף בעיקר מאקרופאג'ים ומונוציטים, שהם תאי קו ההגנה הראשון של מערכת החיסון, הבולעים את הפתוגן ומציגים את חלקיו כאנטיגנים, ללימפוציטים מסוג T. מאחר שהתאים הבולעניים (מאקרופאג'ים ומונוציטים) הם התאים המודבקים בנגיף,

אין הצגת אנטיגנים יעילה של חלקיו. לכן, תאי T, תאי B ותאי מערכת החיסון הנוספים, לא מופעלים ביעילות כנגד הנגיף. התוצאה היא המשך התפשטותו המהירה וחסרת המעצורים של הנגיף, בלי יכולת ממשית של הגוף להתמודד כנגדו.

**תמונה 11:**  
**נגיף האבולה מבעד למיקרוסקופ אלקטרוני**



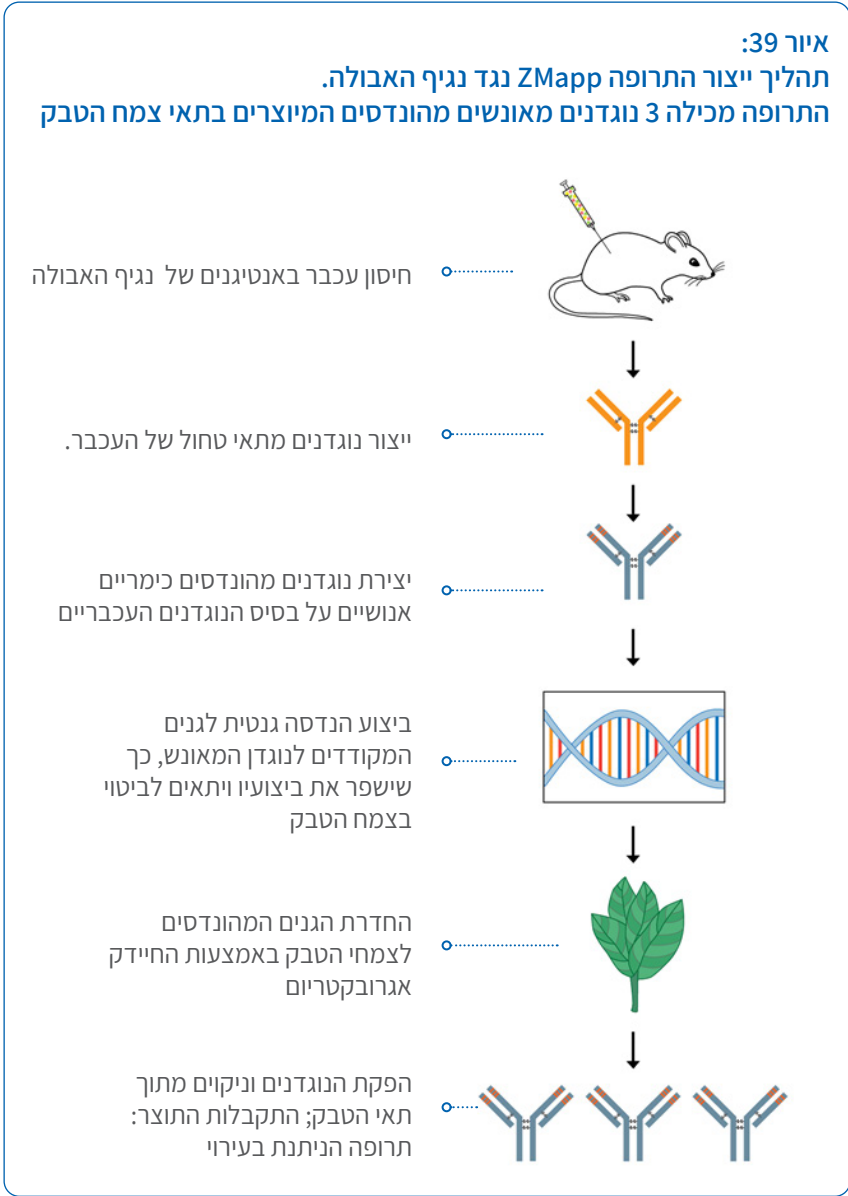
עם תסמיני המחלה נמנים חום גבוה מאוד, הפוגע בתפקודן של רקמות בגוף, ובכלל זה תאי מערכת העיכול ותאי הכבד. עקב הפגיעה בתאי מערכת העיכול נוצרים דימומים פנימיים קשים, שלשולים ופגיעה בתאי הכבד המשבשת את ייצור חלבוני הקרישה הרבים המופקים בו. סכנת חיים גבוהה נשקפת לחולה בעקבות התפתחות של התייבשות חמורה על רקע איבוד נוזלים, זיהומים והיחלשות של הגוף. שיעורי התמותה מהנגיף גבוהים ביותר, וכ- 50% מהנדבקים בו עלולים למות מסיבוכיו.

הנגיף זוהה בפעם הראשונה בשנת 1976 בזאיר (כיום הרפובליקה הדמוקרטית של קונגו)


שבמרכז אפריקה, בקרבת נהר האבולה, ומכאן נגזר שמו. מאז ועד ימינו תועדו כמה התפרצויות אפידמיות של המחלה ביבשת אפריקה. ההתפרצות הקשה ביותר של המגפה אירעה בשנת 2014 במערב אפריקה, וגבתה את חייהם של 11,315 בני אדם. היא עוררה חשש מפני התפשטות עולמית, ודעכה רק בשנת 2016. כך הואץ המחקר בניסיון לפתח תרופה יעילה למחלה.

התרופה הניסיונית **ZMapp** נוסתה בפעם הראשונה לטיפול באבולה בבני אדם באותה מגפה באפריקה בשנת 2014. תוצאות הטיפול במעט מהחולים שטופלו בתרופה זו העידו על הצלחה חלקית במניעת התמותה מהמחלה. מאז כבר אושרו ניסויים קליניים נוספים באפריקה, מתוקף הליך אישורה של התרופה לשימוש רשמי. **ZMapp** היא דוגמה לחיסון סביל הניתן לאדם בעת התפרצות מחלה מסכנת חיים, המאופיינת בפגיעה במערכת החיסון ובשיעורי תמותה גבוהים. בתרכיב התרופה שלושה נוגדנים כימריים מהונדסים כנגד נגיף האבולה, שפותחו בשיתוף פעולה בין מכון הבריאות הקנדי לבין המכונים הלאומיים לבריאות בארה"ב (NIH). אלו הם נוגדנים "מאונשים" המכילים את אזורי הקישור הספציפיים לנגיף שמקורם מנוגדן חד-שבטי עכברי. שאר אזורי הנוגדן הם רצפי נוגדן אנושיים. הנוגדן אף הונדס כך שבחלק **Fc** שלו נמצא אתר קישור לקולטן הנמצא על מאקרופאג'ים, ובדרך זו נוצר זיהוי מיטבי בין הנוגדן לבין תאי מערכת החיסון האחראים על תהליך סילוק האנטיגן מהגוף לאחר קישורו לנוגדן.

לצורך ייצור הנוגדן בקנה מידה מסחרי בחרו החוקרים להשתמש בצמח הטבק. הגן הרקומביננטי של הנוגדן הוחדר באמצעות **החיידק אגרובקטריום** לתאי צמח הטבק, שגודלו לצמחים המבטאים את הנוגדן. הנוגדן הופק ונוקה מתאי צמח הטבק לקראת הכנתו כתרופה. תהליך ייצור התרופה **ZMapp** מוצג באיור 39.



[תהליך ייצור התרופה ZMap בצמחי טבק מהונדסים](#)  
[ופוטנציאל השימוש בשיטת גידול זו לחיסונים אחרים.](#)



**סרטון**

כיום, תרופות רבות המיועדות למגוון רחב של מחלות ומבוססות על חיסון סביל הכולל נוגדנים מהונדסים מצויות בשלבי פיתוח ואישור שונים.

## שאלות סיכום לתת-פרק 5.1: החיסון הפעיל והחיסון הסביל

### ? שאלה 70

מדוע חיסון פעיל נקרא כך, ומה הוא מפעיל בעת הזרקתו?

### ? שאלה 71

מהי מטרתה של תכנית החיסונים המומלצת עבור תושבי ישראל מטעם משרד הבריאות? התייחסו בתשובתכם למטרות בהקשר של הפרטים באוכלוסייה וכלל האוכלוסייה.

### ? שאלה 72

תרכיב החיסון הפעיל מבוסס על:

- נוגדנים מהונדסים
- נוגדנים חד-שבטיים
- אנטיגן מוחלש או מומת / חלקי אנטיגן
- שילוב של אנטיגן ונוגדן

### ? שאלה 73

האנטיגנים בחיסון האוניברסלי, המצוי כיום בשלבי פיתוח נגד נגיף השפעת, הם החלקים החלבוניים:

- שאינם משתנים בנגיפים בעקבות מוטציות תכופות
- המשתנים בנגיפים בעקבות מוטציות תכופות
- שנוצרו בנגיפים בעקבות מוטציות תכופות בשנה שקדמה לפיתוח
- של נגיפים רבים מסוגים שונים

### ? שאלה 74

במה שונה תרכיב החיסון נגד הנגיף HBV (צהבת נגיפית מסוג B) מתרכיב החיסון נגד נגיף הפוליו?

- תרכיב החיסון נגד נגיף הפוליו מכיל חלבוני מעטפת רקומביננטיים של הנגיף, ואילו תרכיב החיסון נגד HBV מכילים נגיפים שלמים
- תרכיב החיסון נגד נגיף הפוליו מכיל נגיפים שלמים, ואילו תרכיב החיסון נגד HBV מכילים חלבוני מעטפת רקומביננטיים של הנגיף
- תרכיב החיסון נגד נגיף הפוליו מכיל נוגדנים מהונדסים, ואילו תרכיב החיסון נגד HBV מכילים אנטיגנים מוחלשים
- תרכיב החיסון נגד נגיף הפוליו מכיל אנטיגנים מוחלשים, ואילו תרכיב החיסון נגד HBV מכילים נוגדנים מהונדסים

### שאלה 75 ?

מדוע בחרו החוקרים לפתח כנגד נגיף האבולה חיסון סביל ולא חיסון פעיל היוצר זיכרון חיסוני לטווח ארוך?

### שאלה 76 ?

בעת פיתוח התרופה ZMapp השתמשו החוקרים תחילה בנוגדנים חד-שבטיים עכבריים כנגד אנטיגנים של הנגיף. הסבירו מדוע היה צורך בשלב זה בתהליך הפיתוח.

### שאלה 77 ?

מה מכילה התרופה ZMapp?

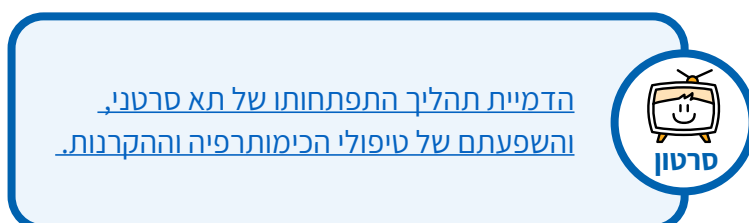
- א. נוגדנים חד-שבטיים עכבריים כנגד נגיף האבולה
- ב. נוגדנים כימריים מהונדסים כנגד נגיף האבולה
- ג. נגיפים מוחלשים של אבולה
- ד. נוגדנים רב-שבטיים מהונדסים כנגד נגיף האבולה

### שאלה 78 ?

צפו בסרטון (ר' קישור לעיל, בסוף הפרק) המציג את דרך ייצור התרופה ZMapp בצמח הטבק, והסבירו מדוע בחרו החוקרים לייצר את התרופה דווקא בצמחים אלו.

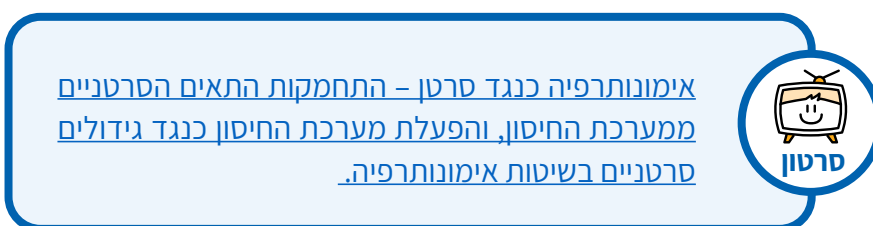
## 5.2 | אימונתרפיה ושימוש בנוגדנים לטיפול במחלת הסרטן

הטיפולים המסורתיים במחלות הסרטן, ובכלל זה ניתוח כירורגי להסרת הגידול בליווי כימונתרפיה ו/או הקרנות, היו כמעט היחידים עד לשנים האחרונות. טיפולי הכימונתרפיה וההקרנות נועדו לפגוע בתאים שחלוקתם בלתי מבוקרת. הם מאפשרים האטה של התפתחות הגידולים הסרטניים בחולים רבים, אך באחרים טיפולים אלו אינם מספקים. יתרה מכך, מדובר בטיפולים הפוגעים ברקמות המתאפיינות מטבען בחלוקת תאים מהירה, כגון תאי העור, זקיקי השערות, מערכת העיכול ומערכת הדם, ותופעות הלוואי הן קשות: הקאות, נשירת שיער, כאבים קשים ודיכוי מערכת החיסון.



בצד טיפולים אלו, המצויים עדיין בשימוש נרחב ועיקרי לטיפול במחלות הסרטן לסוגיהן, פותחו טיפולי אימונתרפיה רבים המאפשרים התאמה טובה וממוקדת יותר של הטיפול לכל חולה וכן תופעות לוואי מופחתות. הפעילות המחקרית בתחום היא קדחתנית ומתמדת, וטכנולוגיות רבות ומגוונות של אימונתרפיה מצויות בשלבי פיתוח, לצד תרופות אימונתרפיות ניסיוניות וכאלו שכבר משווקות. בפרק זה נתמקד בשיטות האימונתרפיה המפותחות נגד מחלות הסרטן, שנועדו לשתי מטרות עיקריות:

1. סיוע למערכת החיסון להגיב כנגד תאי הגידול על ידי שימוש בנוגדנים המסמנים את תאי הגידול והנושאים תרופות הפועלות ספציפית כנגד תאים אלו.
2. הגברת כושר פעולתה של מערכת החיסון הנרכשת כנגד תאי הסרטן, ובכלל זה יצירת זיכרון חיסוני. זאת, באמצעות חשיפת תאי הגידול לפעילותה של מערכת החיסון.



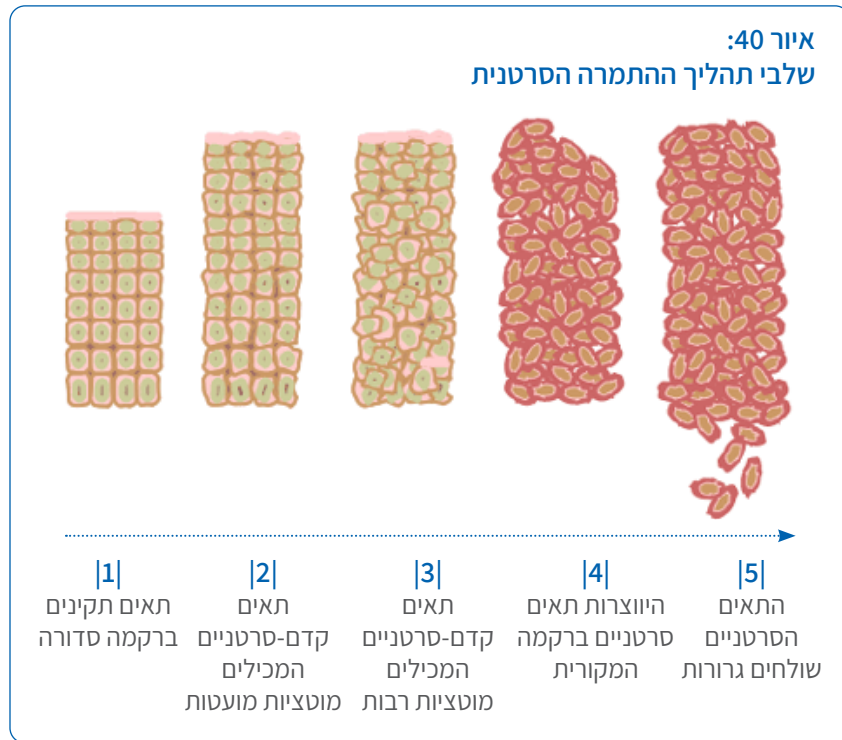
### 5.2.1 | עקרונות ההתחמקות של תאים סרטניים ממערכת החיסון

תהליך התפתחותו של תא סרטני מתא רגיל בגוף מוגדר תהליך התמרה סרטנית, והוא מאופיין בצבירת מוטציות עקב אי-יציבות גנומית של התא הסרטני. מאפיין זה מקנה לתאי הגידול הסרטני יתרון בהתרבות ובהתפשטות לעומת התאים התקינים בסביבתם.

מעבר ליכולתם להתרבות ולשרוד, תאי הגידול הסרטני מאופיינים ביכולת לפתח גרורות וגידולי משנה. תאים שמקורם בגידול הראשוני ניתקים ממנו, חודרים למערכת הדם ו/או למערכת הלימפה, ודרכן נודדים למקומות אחרים בגוף, שם הם מתבייתים ויוצרים גידולי משנה. שלב זה של המחלה הוא השלב הקשה יותר לטיפול ולריפוי.

ידועות דוגמאות רבות לביטויי שגוי של חלבונים בתאי סרטן, המקנה לתאים אלו יתרון: מניעת ביטויים של חלבונים המאפשרים את זיהוי התאים על ידי מערכת החיסון; ביטוי של חלבונים המעכבים פעילות אפשרית של מערכת החיסון כנגד התאים הסרטניים; ביטוי ביתר של גורמי גידול (Growth factor) עבור תאי הסרטן

וגורמי חלוקת תאים או של הקולטנים לגורמים אלו; ביטוי ביתר של גורמי גידול ושל קולטנים ליצירת כלי דם, תהליך הנקרא אנגיוגנזה, המאפשר אספקת חמצן ומזון לתאים; מוטציות ברמת הדנ"א או ביטוי שגוי של חלבוני בקרה ברמת הדנ"א ועוד.

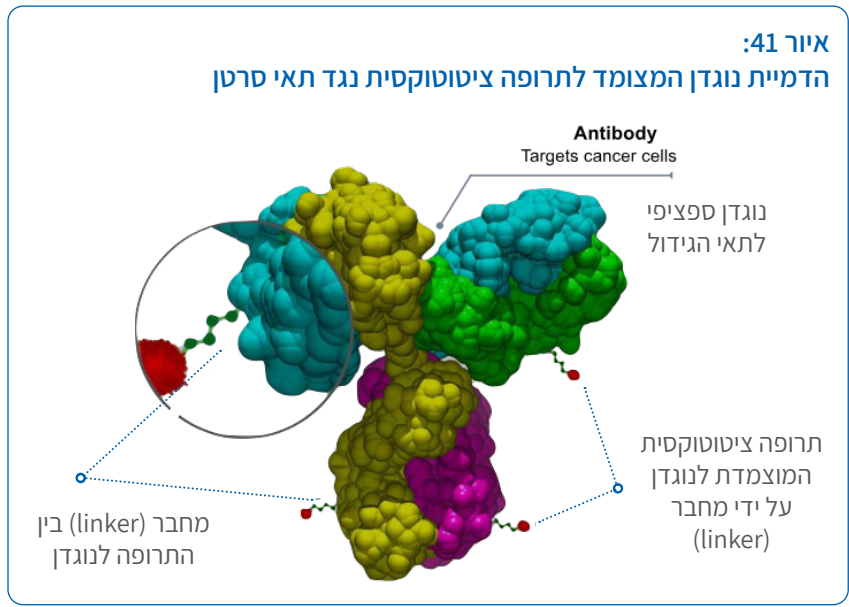


יכולת התחמקותם של תאים סרטניים מזיהוי של מערכת החיסון ומתגובה כנגדם נובעת מהעובדה שאלו הם תאים עצמיים של הגוף, ולכן הם מבטאים אנטיגנים עצמיים שאינם יוצרים תגובה חיסונית של תאי T ותאי B. עם זאת, יש מצבים שבהם יכולים תאי הסרטן להיות מזוהים על ידי תאי מערכת החיסון הנרכשת. לדוגמה, תאי הסרטן מאופיינים באי-יציבות גנומית הגורמת להם לבטא חלבונים "חדשים" (ניאו-אנטיגנים, neo-antigens), שאינם מתבטאים כלל ברקמות הגוף הבריאות, או לבטא ביתר חלבונים המבטאים ברמה נמוכה בהרבה בתאי הגוף הבריאים. לפיכך, תגובה חיסונית עשויה להתפתח כנגד תאי הגידול, בייחוד במקרים שהם מבטאים ניאו-אנטיגנים.

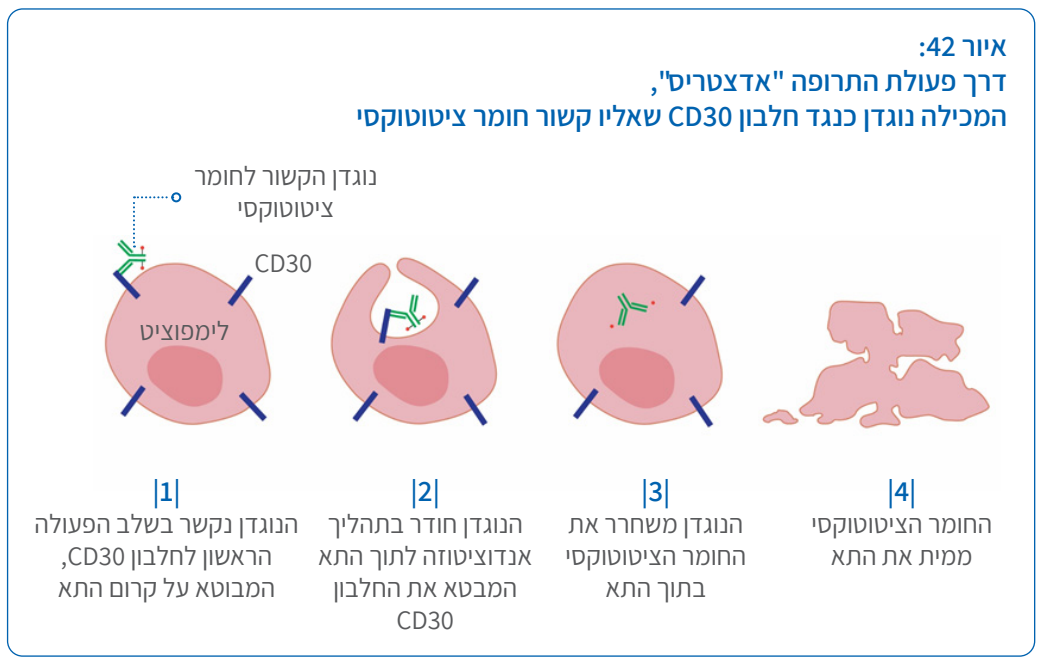
אלא שהממצאים העדכניים בתחום זה מראים כי חרף העובדה שתאים סרטניים מסוימים מבטאים אנטיגנים שיכולים להיות מוכרים על ידי תאי מערכת החיסון הנרכשת, הם מפעילים בתוך כך מנגנונים המונעים מתאי מערכת החיסון להגיב כנגדם. מטרת הטיפולים האימונותרפיים החדשים היא להסיר חסמים אלו, וכך לגרום לתאי מערכת החיסון המזהים אנטיגנים סרטניים לפעול כנגד תאי הסרטן המבטאים אותם. יתרה מכך, קישור של חומרים טוקסיים לנוגדנים מהונדסים המכוונים ישירות כנגד אנטיגנים ספציפיים בגידול מאפשר נטרול ממוקד של תאי הסרטן.

## 5.2.2 | נוגדנים מצומדים לתרופה הפועלים כתרופות מונחות של מולקולות טוקסיות

בזכות יכולתו של הנוגדן להיקשר באופן ספציפי לאנטיגן מסוים, כגון אנטיגן המבטא באופן ייחודי על תאי גידול סרטני מסוים, אפשר לייצר תרופה המבוססת על נוגדן המכוון כנגד אנטיגן זה, וכך תפעל התרופה באופן ברירני רק כנגד תאי הגידול, ולא תפעל כנגד תאים תקינים שאינם מבטאים אנטיגן זה. לצורך השמדה יעילה של תאי הגידול, אפשר לקשור לנוגדן חומר כימי ציטוטוקסי, וכך הנוגדן ינחה את החומר הציטוטוקסי אל תאי הגידול בלבד. התוצאה המתקבלת היא תרופה ציטוטוקסית המכוונת ישירות לתאי הגידול, ואינה פוגעת בתאים תקינים, ולכן תופעות הלוואי שלה מצומצמות לאין שיעור מהתרופות הכימותרפיות הרווחות. כמו כן, לנוגדן המחובר לתרופה נמצאה במקרים מסוימים יכולת אפקטיבית גבוהה בהשמדת תאי הגידול, לעומת נוגדן שאינו מחובר לתרופה, כפי שניתן בחיסון פסיבי רגיל.



התרופה "אדצטריס" (Adcetris) של חברת Seattle Genetics, שאושרה לשימוש בשנת 2011, מכילה נוגדן כימרי עכבר-אדם המכוון כנגד האנטיגן CD30. התרופה מיועדת לטיפול ב**סרטן לימפומה** – מכמה סוגים, המבטאים את המולקולה CD30 על קרום התא. לנוגדן קשור בצורה כימית על ידי מחבר (linker) חומר ציטוטוקסי הגורם למות התאים לאחר חדירתו לתא ושחרורו מהנוגדן (ר' איור 42).



בדרך זו מתאפשרת החדרה של התרופה לתא סרטני ספציפי המבטא את המולקולה CD30 ומניעת פעילות של החומר הציטוטוקסי כנגד תאים שאינם מבטאים אנטיגן זה. אך מכיוון שמולקולה CD30 מבוטאת גם בתאי דם לבנים אחרים, שאינם לימפוציטים, השימוש בתרופה זו כרוך בתופעות לוואי.

### 5.2.3 | נוגדנים המשמשים לחסימת פעולתם של גורמי גידול בתהליך הסרטני

גישה נוספת לטיפול במחלות סרטן היא באמצעות נוגדנים המשמשים לחסימה ולנטרול גורמי גידול, או קולטנים לגורמי גידול, הפועלים בתאי הגידול הסרטני ומעודדים את גדילתם המהירה. כמה מגורמי גידול אלה מעודדים את חלוקת התאים המואצת ואחרים מעודדים את גדילת כלי הדם המספקים לתאי הגידול



את חומרי המזון והחמצן הדרושים לגדילתם. חסימה ישירה של גורמי גידול, או חסימת יכולתם לפעול על ידי חסימת הקולטנים שדרכם מועבר השדר שלהם לתאים, מאפשרת לעצור את התפתחות הגידול ואף עשויה לאפשר נסיגה שלו, לדוגמה באמצעות כושרו של הנוגדן לגייס את מערכת החיסון כנגד תאי הגידול.

תרופות אחדות המכילות נוגדנים לחסימת פעולתם של גורמי גידול בתהליך הסרטני מסוג זה כבר קיבלו את אישור ה-FDA לטיפול בסוגי סרטן ספציפיים. להלן יתואר המנגנון בשתי תרופות מייצגות:

### א. "הרצפטין" (Herceptin)

התרופה מיועדת לטיפול בסרטן השד, הן בשלבי הראשוניים של הגידול והן בשלבים המתקדמים של המחלה, בגידולים המבטאים ברמה גבוהה את הקולטן HER-2 בתאי הגידול. "הרצפטין" מכילה נוגדן חד-שבטי מאונש המכוון כנגד הקולטן HER-2. קולטן זה אמנם מבוטא גם בתאי שד רגילים, אך ברמת ביטוי נמוכה. הקולטן מעביר אות לגדילת התאים ולחלוקתם. בחלק מגידולי סרטן השד מבוטא הקולטן ברמה גבוהה מאוד על פני קרום תאי הסרטן. כך מועבר אות לחלוקת תאים מוגברת, ותאי הגידול מתרבים במהירות ובדרך בלתי מבוקרת.

הנוגדן המצוי בתרופה "הרצפטין" נקשר לקולטן HER-2, וכך מגייס את תאי מערכת החיסון להשמיד את תאי הגידול שהוא נקשר אליהם. יתרה מכך, הנוגדן אף מונע את העברת האות על ידי הקולטן לחלוקת התא. כך מעוכב גידולם של תאי הגידול הסרטני (איור 43). תרופה זו ניתנת בשילוב טיפול כימותרפי המצמצם את חלוקת תאי הגידול. קוקטיל התרופות יוצר מתקפה משולבת על תאי הגידול, וכך מעצים את התגובה לטיפול.



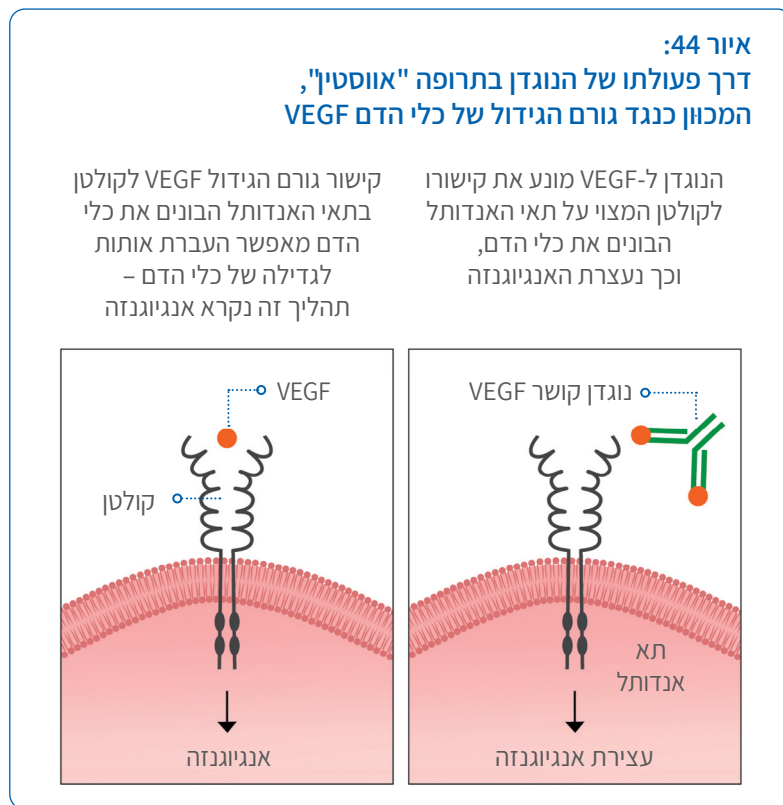
הנוגדן המיוצר על ידי חברת Genentech, כיום בבעלות קונצרן התרופות Roche, אושר לשימוש מטעם ה-FDA כתרופה בחולות סרטן שד גרורת כבר בשנת 1998.

### ב. "אווסטין" (Avastin)

התרופה "אווסטין" (ר' תמונה 13), פרי פיתוח של חברת Genentech, קיבלה את אישור ה-FDA בשנת 2004 לטיפול בכמה מסוגי הסרטן, ובעיקר גידולים הממוקמים בריאות, במוח, בכליות ובמעיים. "אווסטין" מיועדת אף לטיפול במחלות עיניים במבוגרים.

תרופה זו מכילה נוגדן חד-שבטי מאונש המכוון כנגד גורם הגידול VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), המשוחרר על ידי תאי הגידול הסרטני ומעורר אנגיוגנזה – יצירת כלי דם חדשים. הנוגדן "המאונש" שבתרופה נקשר ל-VEGF, וכך מונע את קשירתו לכלי הדם באזור הגידול הסרטני. נטרול גורם הגידול VEGF עשוי לעצור

את אספקת הדם לתאי הסרטן וכך למנוע את התפשטות הגידול, ואף לאפשר התכווצות שלו (איור 44). תרופה זו ניתנת במשולב עם טיפול כימותרפי הפוגע בתאי הגידול.



שתי התרופות שהוצגו בתת-פרק זה אינן אלא דוגמאות בלבד לתרופות רבות אחרות שאושרו לטיפול במחלות סרטן והוכחו כיעילות.

#### 5.2.4 | חיסון באנטיגנים ספציפיים של תאי הגידול הסרטני לצורך יצירת תגובה חיסונית מותאמת אישית כנגד תאים אלה

כדי להגביר את כושר הזיהוי וההשמדה של תאים סרטניים על ידי מערכת החיסון, ובראש ובראשונה על ידי תאי T, פותחו שיטות לזיהוי של אנטיגנים ייחודיים בתאי גידול שונים, במטרה לייצר מהם חיסון שיגרום למערכת החיסון עצמה לפעול כנגד הגידול הסרטני ולסלקו מהגוף. האנטיגנים העיקריים המשמשים למחקר זה הם אותם ניאו-אנטיגנים שהוזכרו לעיל – חלבונים המבוטאים בתאי הסרטן עקב מוטציות שהתרחשו במהלך ההתמרה הסרטנית, ואינם מבוטאים בתאים תקינים. מכיוון שניאו-אנטיגנים אלו אינם חלבונים עצמיים רגילים, הרי שתאי מערכת החיסון יכולים להגיב בעוצמה רבה כנגד התאים המבוטאים אותם ולסלקם מהגוף.

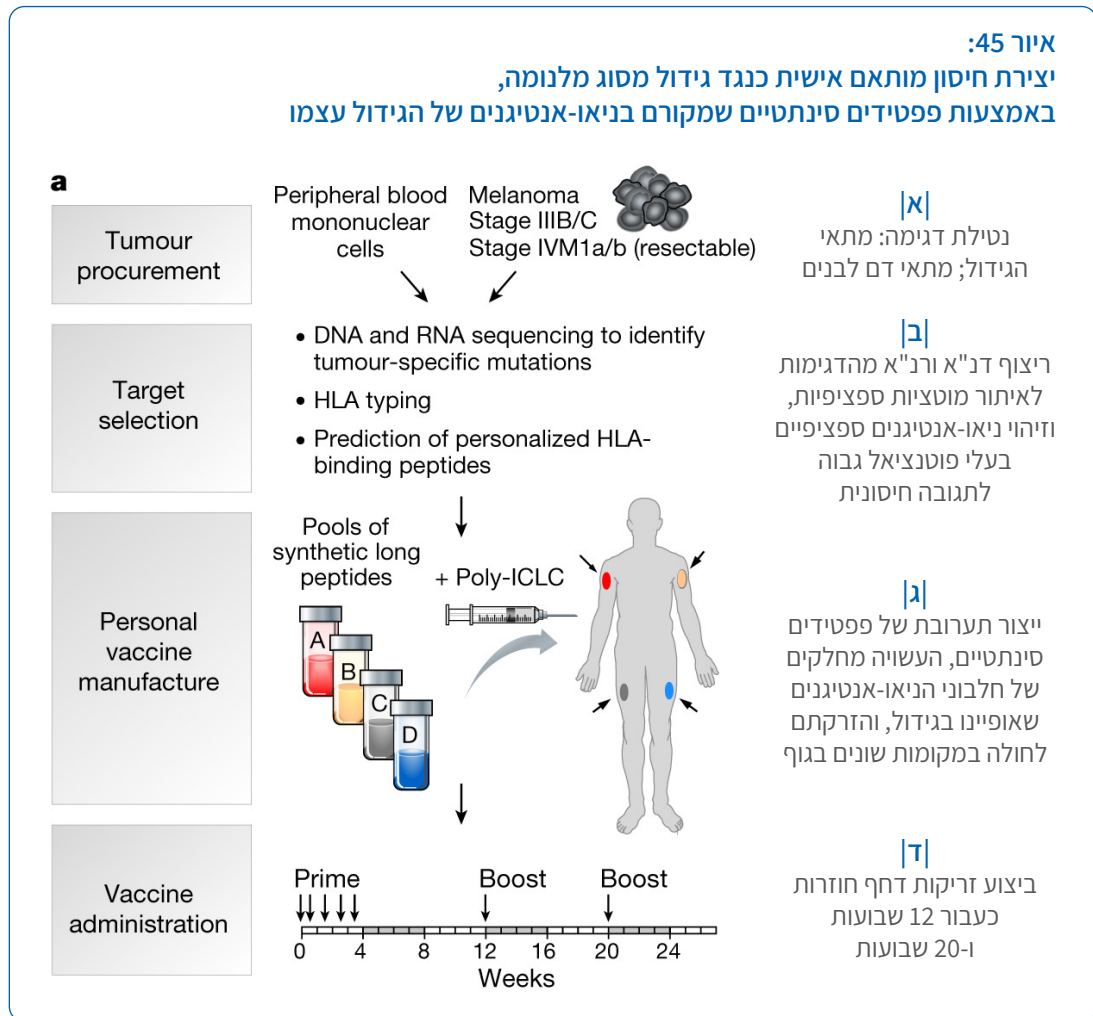
חשוב לציין כי כל גידול סרטני בכל אדם הוא תוצאה של מכלול מוטציות שהביאו לידי היווצרותו. ולכן, אף שנמצאו אנטיגנים זהים בחולים שונים – ייתכן מצב שבו הגידול באדם חולה הוא ייחודי ומציג מערך ניאו-אנטיגנים ייחודי לו. מכאן שזיהוי אנטיגנים אלו צריך להיות מבוצע ביחס לכל חולה באופן ספציפי.

#### השיטה מונה כמה שלבים:

- א. נטילת דגימות של תאי הסרטן ותאי הדם הלבנים מהחולה.
- ב. זיהוי ניאו-אנטיגנים ייחודיים לתאי הסרטן באמצעות ריצוף הדנ"א והרנ"א שהופקו מתאים אלו.
- ג. ייצור סינתטי של פפטידים, המהווים חלק מהניאו-אנטיגנים הייחודיים של הגידול המסוים, שהם בעלי פוטנציאל גבוה לעורר תגובה חיסונית.
- ד. הזרקת פפטידים אלו כחיסון פעיל לחולה, על פי פרוטוקול חיסון מסוים, במטרה לייצר תגובה וזיכרון כנגד תאי הגידול.

עקרון פעולת החיסון דומה לזה של כל חיסון פעיל בגוף: לאחר הזרקת הניאו-אנטיגנים לגוף, ייבלעו האנטיגנים ויוצגו על ידי תאים מציגי אנטיגן (APC). בעקבות כך, תופעל התגובה החיסונית הספציפית, ובראשה תגובתם של תאי T-ציטוטוקסיים כנגד תאי הגידול, המבטאים אותם ניאו-אנטיגנים. יתרה מכך, הטיפול אף מייצר זיכרון חיסוני כנגד אנטיגנים אלו.

בשנת 2017 פורסם בכתב העת Nature מאמר המתאר את דרך יצירת החיסון, פרוטוקול החיסון והניסויים הקליניים בחולי **מלנומה** שטופלו באמצעות חיסון מסוג זה. המחקר בוצע אמנם בקבוצה קטנה של חולים, אך הציג תוצאות מרשימות ביצירת תגובה חיסונית של תאי T כנגד אנטיגנים אלו ובריפוי המחלה בחולים שהשתתפו בניסוי. איור 45 מציג את שלבי הכנת החיסון המותאם אישית על פי המאמר, כפי שבוצע במחקר בחולי מלנומה.



## 5.2.5 | נוגדנים המונעים את שיתוק פעילותם של תאי T כנגד הגידול הסרטני

כיוון טיפולי אימונותרפי נוסף נבע ממחקר שמטרתו הייתה הבנה טובה יותר של המנגנונים המונעים תגובה חיסונית יעילה של לימפוציטים מסוג T כנגד תאי סרטן. מחקרים הראו כי למרות הצגת אנטיגנים של תאים סרטניים על ידי תאים מציגי אנטיגנים (APC), הרי שבמקרים רבים נמנעה תגובה חיסונית אפקטיבית כנגד האנטיגן, עקב השתקת המנגנון החיסוני כנגד תאים אלו. תופעה זו מנעה את הצלחת הגישה הטיפולית בקרב חלק מהחולים.

מחקרים שונים אפיינו שתי מולקולות עיקריות המבטאות על פני תאי T ומעכבות את תגובתם כנגד תאי הגידול: CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated protein 4) ו-PD-1 (Programmed cell Death protein 1). מולקולות אלו מתפקדות כצומת בקרה של התגובה החיסונית, שכן הן מונעות תגובה כנגד תאי הגוף הבריאים,

או לחלופין מונעות תגובת יתר חיסונית כנגד אנטיגן. בפעילות חיסונית תקינה, קישור מולקולות אלו לתאים מציגי אנטיגן המבטאים את "בני הזוג" של מולקולות אלו מונע את התגובה החיסונית של תאי T כנגד האנטיגן ובעקבות זאת את יצירת הזיכרון החיסוני.

כדי למנוע את פעולתן המעכבת של מולקולות אלו, פותחו בשנים האחרונות תרופות המבוססות על נוגדנים אנושיים מהונדסים המכוונים כנגד המולקולות CTLA-4 ו-PD-1. נוגדנים אלו נקשרים למולקולות המעכבות הנמצאות על פני תאי T, וכך מונעים את השתקת פעילותם של תאי T, ומאפשרים תגובה חיסונית יעילה, הכוללת פעולה ציטוטוקסית של תאי T כנגד תאי הגידול ויצירת זיכרון חיסוני אפקטיבי (איור 46).

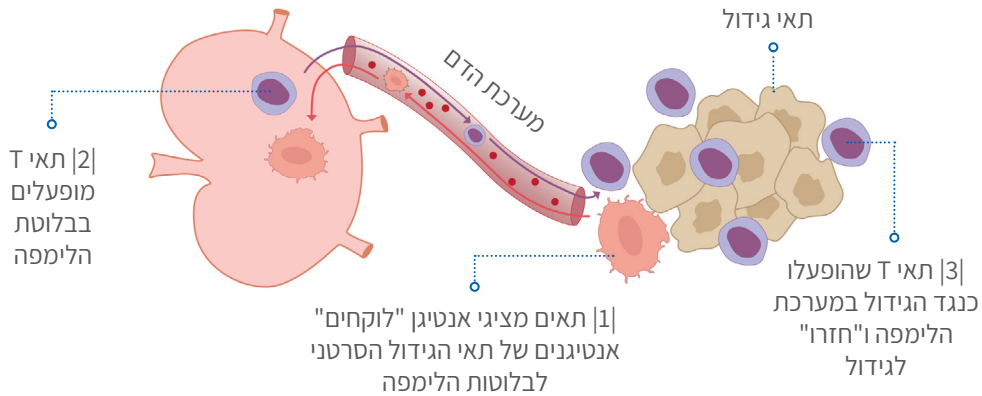
על פיתוח גישתם המהפכנית לטיפול בסרטן, זכו שני המדענים – ג'יימס אליסון (James Allison) האמריקני וטסוקו הונג'ו (Tasuku Honjo) היפני – במשותף בפרס נובל לרפואה לשנת 2018.

[אתר פרס נובל המציג את פרס נובל לרפואה לשנת 2018](#)

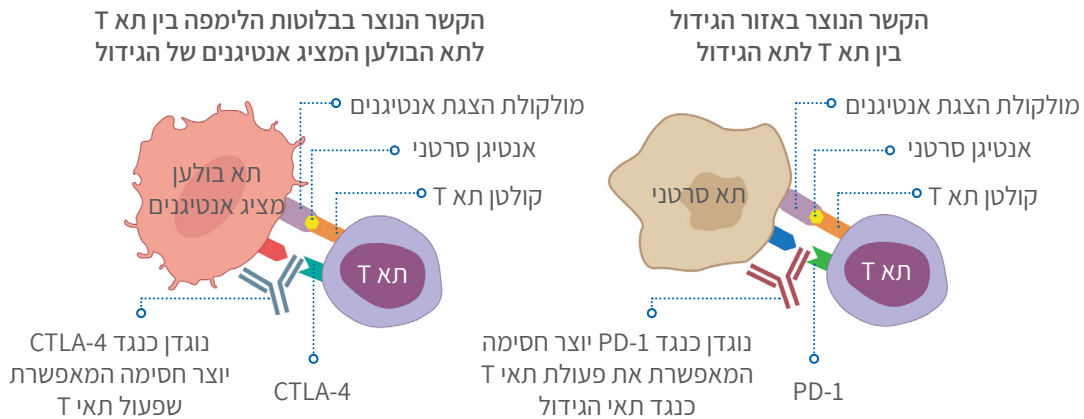


נוגדנים המונעים את שיתוק פעולת תאי T כנגד תאי הגידול

א| שפעול תאי T כנגד אנטיגן של תאי הגידול



ב| עקרון פעולתו ונטרולו של מנגנון עיכוב תגובת תאי T



כפי שמוצג באיור, התגובה החיסונית של תאי T כנגד תאי הגידול מתבצעת באמצעות הקולטנים של תאי T, המזהים אנטיגנים סרטניים המוצגים על תאי הגידול עצמם ועל ידי תאים מציגי אנטיגן (APC). התאים מציגי האנטיגן (APC) "אוספים" אנטיגנים סרטניים בסביבת הגידול הסרטני, ומשם נודדים דרך מערכת הדם לבלוטות הלימפה. בבלוטות הלימפה מוצגים האנטיגנים לתאי T הספציפיים לאנטיגנים אלו, ותאי T הציטוטוקסיים מופעלים. אותם תאי T שהופעלו שבים דרך מחזור הדם אל הגידול ופועלים כנגדו.

כאמור, במקרים רבים בנוכחות תאים סרטניים תגובה זו מעוכבת על ידי "בני הזוג" של המולקולות CTLA-4 ו-PD-1 המבוטאות על גבי תאי T. שימוש בנוגדנים כנגד המולקולות CTLA-4 ו-PD-1 חושף את תאי הגידול לפעילות של תאי T כנגדם, וכך מופעלת מערכת החיסון של הגוף כנגד תאי הסרטן.

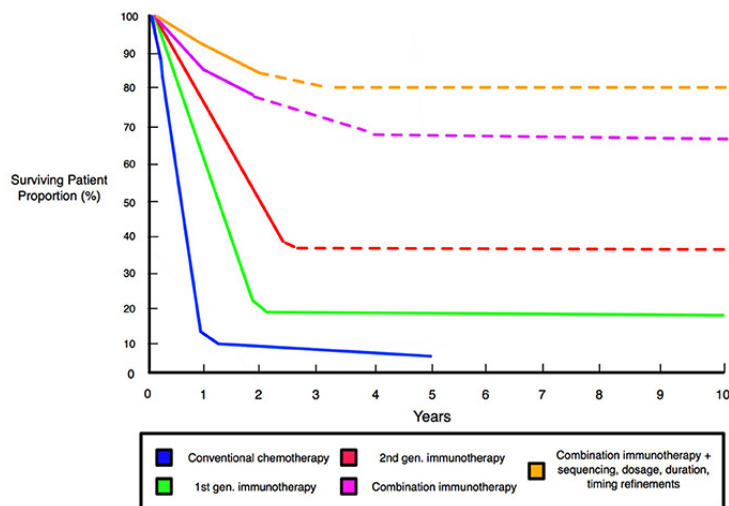
פעולת הנוגדנים המכוונים כנגד אותם חלבונים בקרה של התגובה החיסונית נמצאה יעילה מאוד בשיפור הישרדותם של המטופלים, בהשוואה למטופלים בטיפולים השגרתיים בסרטן, דוגמת כימותרפיה.

התרופות שהכילו נוגדנים כנגד המולקולות CTLA-4 או PD-1 ניתנו לחולים במבחר ניסויים קליניים, לטיפול בסוגי סרטן רבים, בעיקר מלנומה. הן נמצאו יעילות גם בשלביה המתקדמים של המחלה והובילו להארכה ניכרת של מספר השנים בהישרדות החולים. עם זאת, יעילות זו הייתה לרוב מוגבלת לשיעור נמוך יחסית של חולים. לפיכך, החלו החוקרים והרופאים ליישם גישת טיפול משולבת, שנועדה לבחון שילוב של כמה גישות

אימונותרפיות, הפועלות במבחר דרכים, לצורך הפעלת מערכת החיסון כנגד תאי הגידול. היעילות המרבית של סוגי טיפול אלה התקבלה בטיפול המשלב גישות אימונותרפיות אחדות, ובהן גם שימוש בנוגדנים כנגד CTLA-4 ו-PD-1 יחדיו.

בתרשים שלהלן (איור 47), מתוך מאמר שפורסם בשנת 2018 בכתב העת *Frontiers in Oncology*, השוותה יעילות הטיפול הכימותרפי ליעילותם של טיפולי אימונותרפיה נבחרים שפותחו לאורך השנים, וכן ליעילותו של טיפול אימונותרפי המשלב גישות אימונותרפיות אחדות, ביחס לשיעור ההישרדות של החולים לאורך זמן. הטיפול המסורתי בכימותרפיה, המיוצג בתרשים בעקומה הכחולה, הניב את היעילות הנמוכה ביותר בהישרדות חולי הסרטן לאורך זמן, בהשוואה לטיפולים האימונותרפיים. הטיפול האימונותרפי מהדור הראשון, שכלל את הנוגדן anti-CTLA-4, הגביר את יעילות הטיפול, כפי שמיוצג בעקומה הירוקה בתרשים, אך עדיין ההשפעה ניכרה רק בקרב כ-20% מהחולים לאורך שנים. יעילותם של הטיפולים האימונותרפיים מהדור השני, שכללו נוגדן כנגד המולקולה PD-1, מיוצגת בתרשים בעקומה האדומה. טיפולים אלה תרמו לעלייה ניכרת בהישרדותם של כ-40% מהחולים. הדור השלישי של הטיפולים האימונותרפיים משלב תרופות המכילות נוגדנים כנגד המולקולות PD-1 ו-CTLA-4. יעילותו של טיפול משולב זה, המיוצג בתרשים בעקומה הסגולה, נמצאה הגבוהה ביותר: 60%-70% מהחולים שהשתתפו בניסויים הקליניים הגיבו לטיפול ושרדו בזכותו לאורך שנים. ניסויים קליניים נוספים המבוצעים כיום משלבים גישות אימונותרפיות נבחרות, ובהן שימוש בנוגדנים כנגד המולקולות PD-1 ו-CTLA-4 וכן חיסון בניאו-אנטיגנים ושימוש בתאי T מהונדסים. העקומה הצהובה בתרשים מייצגת את ההערכה שלפיה לטיפולים משולבים אלו יגיבו 80% מהחולים לאורך שנים. שלושת הקווים המקווקים באיור 47 מציינים תחזית של הישרדות על פי תוצאות ניסויים קליניים עכשוויים (2018) בגישות טיפול אלו ובשילוב ביניהן.

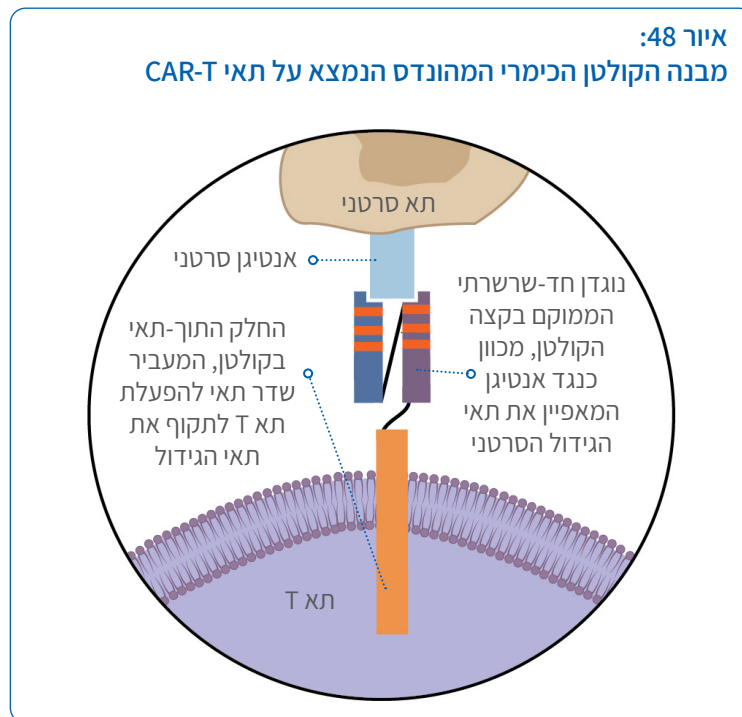
**איור 47:** שיעור ההישרדות בקרב החולים במחלת הסרטן על ציר הזמן (בשנים), כמדד ליעילות טיפולי האימונותרפיה וטיפול משולב של תרופות אימונותרפיות, בהשוואה לכימותרפיה



### 5.2.6 | שימוש בתאי T מהונדסים: תאי CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T Cells)

מתוך הבנה שללימפוציטים מסוג T יש יכולת זיהוי והמתה של תאי גידול סרטני, אך הם נכשלים בהשמדת תאי גידול אלו במקרים מסוימים מכיוון שאינם מזהים אותם כתאים זרים, פותחה שיטת *CAR-T Cells*. מדובר בגישת טיפול המבוססת על מחקרו של פרופ' זליג אשחר ממכון ויצמן, ולפיה מפיקים תאי T מהונדסים שמקורם בתאי T מגוף החולה עצמו, ומוסיפים להם קולטן כימרי המכוון ישירות לאנטיגן ספציפי בגידול. הקולטן הוא תוצר של הנדסה גנטית, שמשולב בו נוגדן חד-שרשרתי המכוון כנגד האנטיגן המאפיין את תאי הגידול עם החלק התוך-תאי של קולטני תאי T, האחראי על העברת שדרים תוך-תאיים. קישור הנוגדן שבקצה הקולטן

הכימרי לאנטיגן המצוי בתאי הגידול מפעיל את תאי T הציטוטוקסיים כנגד תאי הסרטן, בלי צורך בהצגת אנטיגן על APC, והתוצאה – תאי הגידול מושמדים.



**מנגנון הפעולה של תאי CAR-T**

**קישור**

תהליך ייצור תאי CAR-T מבוצע בכמה שלבים במרכזים רפואיים נבחרים ברחבי העולם, וכן בחברות ביוטכנולוגיות (ר' איור 49):

**שלב 1:** נטילת דגימה של תאי דם המכילים תאי T מהחולה והקפאתם. שלב זה מתבצע במרכז הרפואי המטפל בחולה.

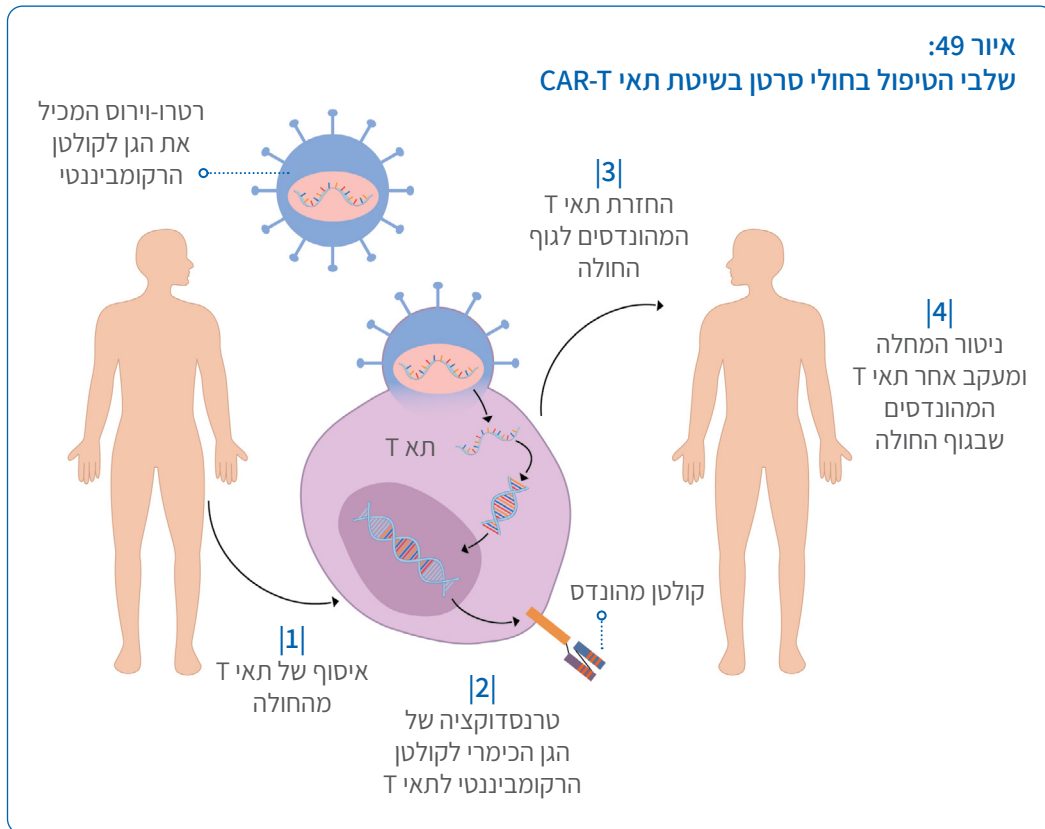
**שלב 2:** העברת תאי הדם מהמרכז הרפואי לחברת ביוטכנולוגיה ייעודית, לביצוע הנדסה גנטית בתאי T על ידי טרנסדוקציה – הוספת הגן הכימרי של הקולטן בעזרת **רטרו-וירוס** מהונדס גנטית וגידול התאים. בסוף התהליך התאים מוקפאים ומוחזרים למרכז הרפואי.

**שלב 3:** תאי T המהונדסים מוחזרים לגוף החולה במטרה שישמידו את תאי הגידול.

**שלב 4:** ניטור המחלה ומעקב רציף אחר השפעות הטיפול על החולה ועל תאי T המהונדסים שבגופו.

איור 49:

### שילבי הטיפול בחולי סרטן בשיטת תאי CAR-T



[תהליך ייצור תאי CAR-T בחברת Novartis](#)



הטיפול בשיטת תאי CAR-T אושר לשימוש בשנת 2017 בפעם הראשונה מטעם ה-FDA לטיפול בסרטן הדם (לוקמיה) בילדים. כיום האנטיגן שאליו מכוון הטיפול הוא CD19, המבוטא בתאים הסרטניים של כל החולים במחלות אלו. באותה שנה אישר ה-FDA לחברת Kite Pharma הישראלית טיפול מאותו סוג בחולי לימפומה. החברה עצמה הוקמה על בסיס השיטה שפיתחו במחקרם פרופ' זליג אשר, פרופ' גדעון גרוס וד"ר דניאל שינדלר ממכון ויצמן. שיטה זו מאפשרת טיפול במגוון רחב של מחלות סרטן, המבטאות אנטיגנים ספציפיים. זאת, על ידי יצירת קולטני תאי T ספציפיים לאנטיגנים אלו. נראה כי לשיטה זו צפוי פוטנציאל גדול, והיא עתידה להיות מאושרת כטיפול בטוח ויעיל באותן מחלות. אגב כך, חברת Kite Pharma נרכשה בשנת 2017 בידי חברת Gilead האמריקנית.

לקריאה נוספת:

- [אישור ה-FDA לתרופה של חברת קייט פארמה לטיפול בלימפומה](#)
- [ריאיון עם מפתח השיטה, פרופ' זליג אשר ממכון ויצמן, על התהליך המחקרי לפיתוח שיטת תאי CAR-T](#)





## שאלות סיכום לתת-פרק 5.2: אימונתרפיה ושימוש בנוגדנים לטיפול במחלת הסרטן

### ? שאלה 79

הטיפולים האימונתרפיים בחולי סרטן מתאפיינים בתופעות לוואי (מעטות / רבות) יחסית, אם הם מכוונים כנגד אנטיגנים (ספציפיים / לא-ספציפיים) לגידול הסרטני שאינם מצויים בתאים בריאים. הגישה האימונתרפית מאפשרת גם התאמת טיפול (אישי / קבוע) עבור החולה, על פי האנטיגנים הייחודיים לגידול הסרטני שבגופו.

### ? שאלה 80

**טענה 1:** במקרים רבים, מערכת החיסון עשויה לזהות את תאי הגידול הסרטני, שכן תאים אלו מבטאים אנטיגנים חדשים עקב אי-יציבות גנומית היוצרת מוטציות רבות.

**טענה 2:** במקרים רבים, מערכת החיסון אינה מזהה את תאי הגידול הסרטני, שכן אלו הם תאים עצמיים של הגוף, ולכן מבטאים אנטיגנים עצמיים שמערכת החיסון אינה מזהה כזרים.

- א. רק טענה 1 נכונה
- ב. רק טענה 2 נכונה
- ג. שתי הטענות נכונות
- ד. שתי הטענות אינן נכונות

### ? שאלה 81

תארו את ההבדל בין טיפול כימותרפי רגיל לבין טיפול בנוגדן שאליו קשור חומר ציטוטוקסי, דוגמת התרופה "אדצטריס", בהקשר לתאים הנפגעים בגוף.

### ? שאלה 82

כיצד פועל הנוגדן בתרופה "אווסטין" כנגד הגידול הסרטני?

- א. חוסם קולטן לגורם גידול (Growth factor), וכך עוצר את חלוקת התאים הבלתי מבוקרת
- ב. נושא אל תאי הגידול הסרטני חומר כימותרפי הגורם להשמדתם
- ג. חושף את תאי הגידול הסרטני למערכת החיסון
- ד. חוסם קולטן בתאי האנדוטל, וכך מונע יצירת כלי דם חדשים בגידול הסרטני

### ? שאלה 83

כיצד פועל הנוגדן בתרופה "הרצפטין" כנגד תאי הגידול הסרטני?

- א. חוסם קולטן לגורם גידול ומפעיל את מערכת החיסון כנגד תאי הגידול
- ב. נושא אל תאי הגידול הסרטני חומר כימותרפי הגורם להשמדתם
- ג. חושף את תאי הגידול הסרטני למערכת החיסון
- ד. חוסם קולטן בתאי האנדוטל, וכך מונע יצירת כלי דם חדשים בגידול הסרטני

### שאלה 84 ?

מהם היתרונות הטיפוליים והכלכליים של החיסון הפעיל כנגד ניאואנטיגנים לעומת החיסון הסביל?

### שאלה 85 ?

מדוע אין לתת חיסון פעיל – שהוכן כנגד ניאואנטיגנים שאופיינו בחולה מסוים – גם לחולים אחרים במחלה סרטנית מאותו סוג?

### שאלה 86 ?

כיצד נוגדן המכוון כנגד המולקולות CTLA-4 או PD-1 מעורר את תאי T לפעול כנגד התאים הסרטניים?

א. המולקולות CTLA-4 ו-PD-1 מבטאות על פני תאי הגידול הסרטני כאנטיגנים, ולפיכך הוספת הנוגדנים כנגד מולקולות אלו מאפשרת זיהוי של התאים הסרטניים על ידי מערכת החיסון

ב. המולקולות CTLA-4 ו-PD-1 מבטאות על פני תאי T, ולפיכך הוספת הנוגדנים כנגד מולקולות אלו מונעת את עיכוב פעולתם של תאי T כנגד תאי הגידול הסרטני

ג. קישור הנוגדנים למולקולות CTLA-4 ו-PD-1 המבטאות על פני תאי T יעורר את הפעלתם של תאי T בגוף

ד. המולקולות CTLA-4 ו-PD-1 מבטאות על פני תאי הגידול הסרטני ופועלות כקולטנים לגורמי גידול. חסימת הקולטנים על ידי נוגדנים ספציפיים תאפשר הפסקה של חלוקת התאים הבלתי מבוקרת

### שאלה 87 ?

איור 47 מציג את שיעור הישרדותם של החולים כתלות בטווח הטיפול ובסוג הטיפול האימונותרפי. על פי האיור, מהו הטיפול היעיל ביותר במדד שיעור הישרדות? הסבירו את מנגנון פעולתו של הטיפול.

### שאלה 88 ?

מהו הקשר בין הנוגדנים המכוונים כנגד המולקולות המעכבות CTLA-4 ו-PD-1 לבין הטיפול האימונותרפי באמצעות תאי CAR-T?

### שאלה 89 ?

כיצד יצרו החוקרים בתאי CAR-T את ההכרה בין הקולטן המתבטא בתאי T לבין תאי הגידול?

1. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. Kuby Immunology. Freeman WH, 2007, 7<sup>th</sup> edition, New York.
2. פרימן ע', אברמוב ס'. תהליכים ביוטכנולוגיים, משרד החינוך והתרבות, הוצאת מפ"ט עמל – מהדורה רביעית, 2002.
3. אימונותרפיה – התרופות והיישומים הטיפוליים במחלת הסרטן. פרק 5 נסמך על מידע רשמי המצוי באתרי התרופות הרצפטיין, קיטרודה, אדצטריס ואוסטין.

## מאמרים

4. בליזובסקי א'. המקור למגיפת האבולה במערב אפריקה: עטלפים. אתר "הידען", 2012.  
<https://www.hayadan.org.il/bats-are-a-possible-source-of-the-ebola-epidemic-0401154>
5. ברנסוול ה'. המלחמה באבולה: איך ההתפרצות הגדולה ביותר שתועדה עד כה הניעה את פיתוחם של שני חיסונים ניסיוניים וכמה טיפולים מבטיחים. אתר "הידען", 2015.  
<https://www.hayadan.org.il/fight-ebola-1107158>
6. ויקיפדיה, הערך "שיתוק ילדים".
7. ויקיפדיה, הערך ZMapp (אנגלית): תרופה ניסיונית המבוססת על שלושה נוגדנים חד-שבטיים מאנשים לטיפול אימונולוגי כנגד נגיף האבולה.  
<https://en.wikipedia.org/wiki/ZMapp>
8. משרד הבריאות, האגף לאפידמיולוגיה. תדריך חיסונים, אוגוסט 2018, ירושלים.
9. Alkan SS. Monoclonal antibodies: the story of a discovery that revolutionized science and medicine. Nature Reviews Immunology, 2004;4:153–6.  
<https://www.nature.com/articles/nri1265>
10. Biao M, Hayre J, Avis S, et al. Human antibody production in transgenic animals. Arch. Immunol. Ther. Exp. 2015;63:101–8.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4359279/>
11. Brekke OH, Sandlie I. Therapeutic antibodies for human diseases at the dawn of the twenty-first century. Nature Reviews Drug Discovery, 2003;2:52–62.  
<http://www.nature.com/nrd/journal/v2/n1/full/nrd984.html>
12. Carlino MS, Long GV. Ipilimumab combined with Nivolumab: A standard of care for the treatment of advanced Melanoma? Clinical Cancer Research, 2016;22:3992–8.  
doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2944  
<http://clincancerres.aacrjournals.org/content/clincanres/22/16/3992.full.pdf>
13. Curran MA, Montalvo W, Yagita H, Allison JP. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. PNAS, 2010;107(9):4275–80.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0915174107>

14. Holliger P, Hudson PJ. Engineered antibody fragments and the rise of single domains. *Nature Biotechnology*, 2005;23(9):1126–36.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16151406>
15. Jackson HJ, Rafiq S, Brentjens RJ. Driving CAR T cells forward, *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2016;13:370–83.  
<https://www.nature.com/articles/nrclinonc.2016.36>
16. Keating GM. Bevacizumab: a review of its use in advanced cancer. *Drugs*, 2014;74:1891–925.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25315029>
17. Lim WA, June CH. The principles of engineering immune cells to treat cancer. *Cell*, 2017;168:724–40.  
<https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674%2817%2930064-8>
18. Marshall HT, Djamgoz MBA. Immuno-Oncology: emerging targets and combination therapies. *Frontiers in Oncology*, 2018;8:315, Fig. 6.  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2018.00315/full>
19. Nahta R, Esteva FJ. Herceptin: mechanisms of action and resistance. *Cancer Letters*, 2006;232:123–38.  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383505001011>
20. Oldham RK, Dillman RO. Monoclonal antibodies in cancer therapy: 25 years of progress. *Journal of Clinical Oncology*, 2008;26(11):1774–7.  
<http://ascopubs.org/doi/pdf/10.1200/JCO.2007.15.7438>
21. Omer SB, Salmon DA, Orenstein WA, deHart MP, Halsey N. Vaccine refusal, mandatory immunization, and the risks of vaccine-preventable diseases. *N Engl J Med*, 2009;360:1981–88.  
<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmsa0806477>
22. Ott PA, Hu Z, Keskin DB, Shukla SA, Sun J, et al. An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma. *Nature*, 2017;547:217–21.  
<http://www.nature.com/nature/journal/v547/n7662/abs/nature22991.html>
23. Otto O, et al. Real-time deformability cytometry: on-the-fly cell mechanical phenotyping. *Nature Methods*, 2015;12:199–202, Fig. 6.  
<https://www.nature.com/articles/nmeth.3281>
24. Schumacher TN, Schreiber RD. Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science*, 2015;348:69–74.  
<http://science.sciencemag.org/content/348/6230/69.full>
25. Sharma P, Allison JP. Immune checkpoint targeting in cancer therapy: toward combination strategies with curative potential. *Cell*, 2015;161:205–14.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5905674/pdf/nihms957840.pdf>
26. Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, Ribas A. Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy. *Cell*, 2017;168:707–23.  
[http://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(17\)30065-X](http://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(17)30065-X)

27. Southcombe JH, et al. An altered endometrial CD8 tissue resident memory T cell population in recurrent miscarriage. Scientific Reports, 2017;7:41335.  
<https://www.nature.com/articles/srep41335.pdf>

## איורים

מס' עמוד	מס' איור	כותרת האיור	קרדיט
9	1	העור ומערכות גוף אחרות בעלות רקמת אפיתל, המשמשת להגנה פיזית נגד גורמים זרים	אורי תור-קם
10	2	מערכת החיסון בגוף האדם	אורי תור-קם
11	3	התמיינות תאי הדם במח העצם	Hematopoiesis (human) diagram. Wikimedia Commons (CC BY-SA 3.0)
12	4	השלבים בתהליך הפאגוציטוזה ופירוק הפתוגנים המתרחש במאקרופאג'ים	אורי תור-קם
13	5	הצגת חלקי אנטיגן על ידי תא מציג אנטיגן (Antigen Presenting Cell), וקישור לתא T	אורי תור-קם
14	6	אנטיגנים ואפיטופים המתבטאים על גבי קרום תא חיידק	אורי תור-קם
15	7	תהליך ברירת שבטים של תאי B, כתגובה להיקשרות לאנטיגן ספציפי	אורי תור-קם
16	8	מבנה הקולטן לאנטיגן ספציפי, הממוקם על קרום תא T	אורי תור-קם
17	9	הפעלת תאי T ותאי B של מערכת החיסון הנרכשת	אורי תור-קם
18	10	תא T-ציטוטוקסי מזהה ומשמיד תא מאכסן שהודבק בפתוגן	אורי תור-קם
19	11	תא B המכיל קולטן ספציפי המעוגן לקרום התא ומזהה אנטיגן מסוים	אורי תור-קם
22	12	תגובה חיסונית ראשונית לעומת תגובה חיסונית שניונית – השוואת מהירות התגובה ועוצמתה, לפי התנודות בריכוז הנוגדנים בדם ביחס לזמן (בימים)	אורי תור-קם
29	13א	מבנה הנוגדן: תרשים סכמתי להמחשת מבנה הנוגדן; השרשרות הפפטידיות של החלבון והקשרים ביניהן	אורי תור-קם
29	13ב	מבנה הנוגדן: הדמיית מבנה תלת-ממדי של הנוגדן ומקטעיו	Antibody, Wikimedia Commons (Public domain)
30	14	מבנה סכמתי של האזור המשתנה (וארייבילי) בשרשרות הנוגדן	אורי תור-קם

מס' עמוד	מס' איור	כותרת האיור	קרדיט
31	15	קישור נוגדן לאנטיגן באתר הקישור בקצה מקטע Fab	אורי תור-קם
31	16	הקישור בין הנוגדן לאנטיגן מתרחש בתגובה כימית של שיווי משקל בין יצירת התצמיד לפירוקו	אורי תור-קם
35	17	תערובת נוגדנים רב-שבטית כנגד האנטיגן - במקרה זה מוצגת תערובות של ארבעה נוגדנים, המכוונים כנגד ארבעה אפיטופים שונים באנטיגן	אורי תור-קם
36	18	תהליך ייצורם של נוגדנים רב-שבטיים	אורי תור-קם
37	19	עמודת זיקה לניקוי נוגדן מתמיסה	אורי תור-קם
41	20	ההבדל בין נוגדנים רב-שבטיים לנוגדנים חד-שבטיים	אורי תור-קם
42	21	שלבי הייצור של נוגדנים חד-שבטיים בתרבית תאים	אורי תור-קם
43	22	שלושה סוגים של תאי כלאיים המתקבלים בתהליך האיחוי של תאי מיאלומה עם תאי טחול	Cell fusion and monoclonal antibody production. Sefik S. Alkan, "Monoclonal antibodies: the story of a discovery that revolutionized science and medicine", Nature Reviews Immunology, 4 (2004), pp. 153-156, figure 3. Copyright © 2004, Springer Nature
49	23	סוגי נוגדנים מהונדסים גנטית - כימריים, מאונשים ואנושיים	Antibody engineering. Brekke, Ole Henrik & Sandlie, Inger, "Therapeutic antibodies for human diseases at the dawn of the twenty-first century", Nature Reviews Drug Discovery, 2 (January 2003), pp. 52-62, fig. 2. Copyright © 2004, Springer Nature
51	24	מבנה של נוגדן חד-שרשרתי	אורי תור-קם
52	25	דוגמאות נוספות ליצירת נוגדן מהונדס, רקומביננטי, בעל מבנה שונה מזה של נוגדן טבעי	Schematic representation of different antibody formats, showing intact 'classic' IgG molecules alongside camelid VhH-Ig and shark Ig-NAR immunoglobulins. Holliger, Philipp and Hudson, Peter J., "Engineered antibody fragments and the rise of single domains", Nature Biotechnology, 23(9) (2005), pp. 1126 - 1136, fig. 1. Public domain

קרדיט	כותרת האזור	מס' איור	מס' עמוד
CysDisplay screening technology. © Bio-Rad Laboratories.	"הצגת" נוגדן חד-שרשרתי על פאג'	26	56
אורי תור-קם	סימון ישיר וסימון עקיף באמצעות נוגדן שניוני המסומן בחומר פלואורסצנטי	27	59
אורי תור-קם	הדמיה של תהליך ההצמחה – תוצאת יחסי הגומלין בין הנוגדנים לאנטיגנים: האנטיגנים נקשרים יחד למקבץ בזכות הנוגדנים	28	60
אורי תור-קם	בדיקת היריון – תהליך הצמחה מעוכב מצביע על נוכחות ההורמון hCG בשתן	29	62
אורי תור-קם	סוגים של שיטת ELISA ודרכי השימוש בהם	30	64
אורי תור-קם	שיטת ELISA לאבחון הידבקות בנגיף הפפילומה (HPV), באמצעות זיהוי נוגדנים לנגיף בדם הנבדקים	31	66
אורי תור-קם	הדגמה של תוצאות בדיקת ELISA לאבחון נוגדנים לנגיף HPV	32	66
אורי תור-קם	השלבים העיקריים בשיטת ה-Western blot	33	67
אורי תור-קם	גילוי החלבון על פני הממברנה בשיטת ה-Western blot, על ידי שימוש בנוגדן ראשוני, נוגדן שניוני המסומן באנזים ומצע האנזים	34	69
אורי תור-קם	מדידת גודל התא ומורכבות מבנהו על סמך האור המוקרן על התא באמצעות מכשיר ה-Flow cytometer	35	76
FACS analysis of whole blood. From: Oliver Otto et al, "Real-time deformability cytometry: on-the-fly cell mechanical phenotyping", Nature Methods, 12 (2015), pp. 199-202, fig. 6b. Copyright © 2015, Springer Nature	התפלגות תאי הדם הלבנים מדם היקפי, לפי גודל התא ומורכבות מבנהו	36	77
Phenotypic analysis of CD8+ endometrial T cells by flow cytometry. From: Southcombe J. H. et al, "An altered endometrial CD8 tissue resident memory T cell population in recurrent miscarriage", Scientific Reports, 7 (2017), fig. 2i. Copyright © 2017, Springer Nature. (CC BY 4.0)	התפלגות אוכלוסיית הלימפוציטים, לפי רמת ביטויים של החלבונים CD8 ו-CD4	37	77

מס' עמוד	מס' איור	כותרת האיור	קרדיט
87	38	התחלואה בשיתוק ילדים (פוליו) בישראל לאורך השנים, והחיסונים שניתנו באותן שנים	שיתוק ילדים: 1951 - 2016. האגף לאפידמיולוגיה, משרד הבריאות. מתוך: האתר של משרד הבריאות <a href="http://www.health.gov.il/Subjects/pregnancy/Childbirth/Vaccination_of_infants/Pages/Polio_.aspx">www.health.gov.il/Subjects/pregnancy/Childbirth/Vaccination_of_infants/Pages/Polio_.aspx</a>
90	39	תהליך ייצור התרופה ZMapp נגד נגיף האבולה. התרופה מכילה 3 נוגדנים מאונשים מהונדסים המיוצרים בתאי צמח הטבק	אורי תור-קם
95	40	שלבי תהליך ההתמרה הסרטנית	Cancer progression from NIH. Wikimedia Commons (Public domain)
96	41	הדמיית נוגדן המצומד לתרופה ציטוטוקסית נגד תאי סרטן	Antibody-drug conjugate structure. Wikimedia Commons (CC BY-SA 4.0)
96	42	דרך פעולת התרופה "אדצטריס", המכילה נוגדן כנגד חלבון CD30 שאליו קשור חומר ציטוטוקסי	אורי תור-קם
97	43	מנגנון הפעולה של התרופה "הרצפטין", המכוונת כנגד הקולטן HER-2	אורי תור-קם
98	44	דרך פעולתו של הנוגדן בתרופה "אווסטין", המכוון כנגד גורם הגידול של כלי הדם VEGF	אורי תור-קם
99	45	יצירת חיסון מותאם אישית כנגד גידול מסוג מלנומה, באמצעות פפטידים סינתטיים שמקורם בניאו-אנטיגנים של הגידול עצמו	Generation of a personal, multi-peptide neoantigen vaccine for patients with high-risk melanoma. Ott, P.A., Hu, Z., Keskin, D.B., Shukla, S.A., Sun, J., Bozym, D.J., Zhang, W., Luoma, A., Giobbie-Hurder, A., Peter, L., et al. "An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma", Nature, 547 (2017), pp. 217–221, fig. 1. Copyright © 2017, Springer Nature
101	46	נוגדנים המונעים את שיתוק פעולת תאי T כנגד תאי הגידול	אורי תור-קם



מס' עמוד	מס' איור	כותרת האיור	קרדיט
102	47	שיעור ההישרדות בקרב החולים במחלת הסרטן על ציר הזמן (בשנים), כמדד ליעילות טיפולי האימונותרפיה וטיפול משולב של תרופות אימונותרפיות, בהשוואה לכימותרפיה	Schematic comparison of patient survival associated with different therapies and improved survival with combination immunotherapy. Marshall, HT and Djamgoz, M.B.A., "Immuno-Oncology: Emerging Targets and Combination Therapies", Frontiers in Oncology, 8 (2018), article 315, fig. 6. Copyright © 2018 Marshall and Djamgoz (CC BY)
103	48	מבנה הקולטן הכימרי המהונדס הנמצא על תאי CAR-T	אורי תור-קם
104	49	שלבי הטיפול בחולי סרטן בשיטת תאי CAR-T	אורי תור-קם

## תמונות

מס' עמוד	מס' תמונה	כותרת התמונה	קרדיט
1	שער ראשי	היכרות בין תא סרטן לתאים לימפוציטים	Cancer cell and lymphocytes. © Shutterstock
7	הקדמה	הפעלת התגובה החיסונית הנרכשת	Activation of the immune response: antigen presenting cell activates T-lymphocytes (smaller cells). © Shutterstock
8	פתיחת פרק 1	מאקרופאג' בולע חיידקים	Macrophage engulfing tuberculosis bacteria Mycobacterium tuberculosis, 3D illustration. © Shutterstock
28	פתיחת פרק 2	נוגדן נקשר לחיידק	Antibody attacking bacterium. Immunoglobulin, 3d view. © Shutterstock
35	פתיחת פרק 3	הפרשת נוגדנים על ידי תאי פלסמה	White blood cell B lymphocyte plasma cell producing antibodies isolated on white background. © Shutterstock
58	פתיחת פרק 4	מעבדה באימונודיאגנוסטיקה	Medical concept: blood tube, Leukemia cells and laboratory equipment © Shutterstock
61	1	בדיקת המאגלוטינציה - הצמתה של תאי דם	Blood group testing. © iStock

קרייט	כותרת התמונה	מס' תמונה	מס' עמוד
Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Immunology testing method in laboratory. © Shutterstock	דוגמה לפלטת ELISA המחולקת ל-96 באריות	2	63
Scientist is putting ELISA plate to measure OD with micro plate reader, Selective Focus. © Shutterstock	מכשיר ELISA plate Reader	3	63
SDS PAGE Gel with MW standards. © Bio-Rad Laboratories.	דוגמה לתוצאת מבחן Western blot לבדיקת ביטוי חלבון CCK47 מתאי HeLa	4	70
Rabbit Anti-Mouse IgG (Light Chain Specific) (D3V2A) mAb (HRP Conjugate) #58802. Illustration reproduced courtesy of Cell Signaling Technology, Inc. (www.cellsignal.com)	מבחן Western blot להערכה כמותית של נוגדן בתמיסה	5	71
Pepsinogen enzymes in stomach glands. © Shutterstock	סימון חתך ברקמת הקיבה (דוגמה 1)	6	73
Immunofluorescence. Illustration reproduced courtesy of Cell Signaling Technology, Inc. (www.cellsignal.com)	סימון פלואורסצנטי של תאי תרבית מסוג HeLa (דוגמה 2)	7	73
Confocal immunofluorescent analysis of C2C12 cells. Illustration reproduced courtesy of Cell Signaling Technology, Inc. (www.cellsignal.com)	סימון פלואורסצנטי של תאי תרבית מסוג C2C12, בלי טיפול בחלבון TNF- $\alpha$ ולאחר טיפול באמצעותו (דוגמה 3)	8	74
Antibody Validation for Immunofluorescence. Illustration reproduced courtesy of Cell Signaling Technology, Inc. (www.cellsignal.com)	סימון חתך רקמת לבלב (דוגמה 4)	9	74
אורי תור-קם	Flow cytometer - המכשיר ועקרון פעולתו	10א	75
צילום: פרופ' עדית בן-ברוך, אוניברסיטת תל-אביב	מכשיר Flow cytometer (באוניברסיטת תל-אביב)	10ב	75
T-lymphocytes attacking cancer cell, 3D illustration. Anticancer immunity and treatment concept © Shutterstock	תאי T תוקפים תאי גידול סרטני	פתיחת פרק 5	85

קרדיט	כותרת התמונה	מס' תמונה	מס' עמוד
Ebola virus. Photo: Public Health Image Library, the Center for Disease Control and Prevention, number 1833, Dr. Frederick Murphy, 1976 (Public domain)	נגיף האבולה מבעד למיקרוסקופ אלקטרוני	11	90

## טבלאות

מקור	כותרת הטבלה	מס' טבלה	מס' עמוד
Oldham RK, Dillman RO. Monoclonal antibodies in cancer therapy: 25 years of progress. Journal of Clinical Oncology, 2008; 26(11), 1774-7 (p. 1775, Table 2).	נוגדנים חד-שבטיים נבחרים (כימריים, מאונשים או אנושיים) שאושרו לטיפול בסוגי סרטן מוגדרים	3	50
Brüggemann M, Osborn MJ, Ma B, Hayre J, Avis S, et al. Human antibody production in transgenic animals. Arch. Immunol. Ther. Exp. 2015; 63:101-8 (p. 105, Table 1).	נוגדנים חד-שבטיים אנושיים שה-FDA אישר את שימושם כתרופות, וייצורם הוא באמצעות עכברים טרנסגניים, לפי שנת האישור	4	54
לוח חיסוני השגרה בישראל החל מספטמבר 2016 - משרד הבריאות. מתוך: תדריך חיסונים. משרד הבריאות, שירותי בריאות הציבור, המחלקה לאפידמיולוגיה. ירושלים 2018, לוח 2.	לוח חיסוני השגרה בישראל, מעודכן לספטמבר 2016, משרד הבריאות	6	88