একক 12 ❑ অ্যান্টিজেন-অ্যান্টিবডি বিক্রিয়া [Antigen-Antibody Reaction]

গঠন

12.1 প্রস্তাবনা ও উদ্দেশ্য

12.2 অ্যান্টিবডি আকর্ষণ বা অ্যান্টিবডি অ্যাফিবিটি

12.3 অ্যান্টিবডি অ্যাভিডিটি

12.4 ক্রস রিয়াক্টিভিটি

12.5 অধক্ষেপন ক্রিয়া

12.6 অ্যাগ্লুটিনেশন বিক্রিয়া

12.7 সারাংশ

12.1 প্রস্তাবনা ও উদ্দেশ্য ঃ

বাইরে থেকে দেহে প্রবিষ্ট অ্যান্টিজেনের সঙ্গে দেহে উৎপন্ন অ্যান্টিবডির বিক্রিয়া একটি অত্যন্ত বৈশিষ্ট্যপূর্ণ এবং নিয়ন্ত্রিত গুরুত্বপূর্ণ ক্রিয়া। অ্যান্টিজেন-অ্যান্টিবডি ক্রিয়ায় অসমযোজী বন্ধন, যেমন হাইড্রোজেন বন্ধন, হাইড্রোফোরিক, আয়নীয় এবং ক্যানডার-ওয়ালস্ বন্ধন মুখ্য ভূমিকা গ্রহণ করে। অ্যান্টিজেনের সঙ্গে অ্যান্টিবডির বন্ধন কতটা দৃঢ় হবে তা উপরিউত দুর্বল অসমযোজী বন্ধনের সংখ্যার ওপর নির্ভর করে। অ্যান্টিজেন (Ag) এবং অ্যান্টিবডির (Ab) মধ্যে দূরত্ব যত কত কম (1A) হবে Ab-Ag সংযোজনের ক্রিয়া তত দৃঢ় হবে। অ্যান্টিবডির Fab অংশ যা প্যারাটোপ (Paratope) নামে পরিচিত তার দ্বারা অভিন্ন অথবা প্রায় অভিন্ন অ্যান্টিজেনের এপিটোপের সঙ্গে অসমযোজী বন্ধনের মাধ্যমে যৌগ গঠিত হয়।

এই অংশে অ্যান্টিজেনের সঙ্গে অ্যান্টিবডির ক্রিয়া-বিক্রিয়া গুলি আলোচনা করা হয়েছে, যাতে দেহে অ্যান্টিবডি সম্পর্কে উপলব্ধি হয়।

12.2 অ্যান্টিবডি আকর্ষণ বা অ্যান্টিবডি অ্যাফিনিটি (Antibody affinity)

একটি অ্যান্টিবডির একটিমাত্র অ্যান্টিজেনের সযোজনার জন্য দায়ী অসমযোজী বন্ধনের মোট শক্তিকে ঐ অ্যান্টিবডির অ্যান্টিজেনের জন্য অ্যাফিনিটি বলা হয়। কম আকর্ষণকারী অ্যান্টিবডি অ্যান্টিজেনের সঙ্গে দুর্বলভাবে সংযুক্ত হয় এবং খুব সহজে একে অপরের থেকে বিচ্ছিন্ন হয়ে যেতে পারে। তেমনি বেশী আকর্ষণকারী অ্যান্টিবডি অ্যান্টিজেনের সঙ্গে খুব দৃঢ়ভাবে সংযুক্ত থাকে এবং এই সংযোজন দীর্ঘস্থায়ী হয়।

অ্যান্টিবডির সঙ্গে অ্যান্টিজেনের সংযুক্তিকরণ একটি সমীকরণ দ্বারা প্রকাশ করা হয়-

$$Ag + Ab \underset{K_{-1}}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} Ab - Ag$$

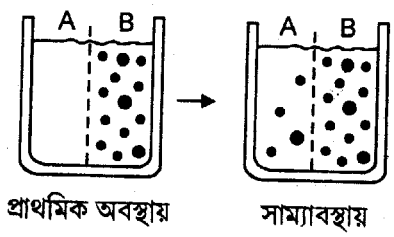
K1 হল সম্মুখ বিক্রিয়ার ধ্রুবক। K–1 হল বিপরীত বিক্রিয়ার ধ্রুবক। K1 / K–1 হল অপর একটি সযোজক ধ্রুবক (association constant) যা আকর্ষণ ক্ষমতার পরিমাপক।

অ্যান্টিজেন অ্যান্টিবডি যৌগের ঘনত্বের সঙ্গে মুক্ত অ্যান্টিজেন এবং অ্যান্টিবডির ঘনত্বের তুলনা করে K-এর মান নির্ণয় করা যায়।

$$K = \frac{K_1}{K_{-1}} = \frac{[Ag - Ag]}{[Ab]\,[Ag]}$$

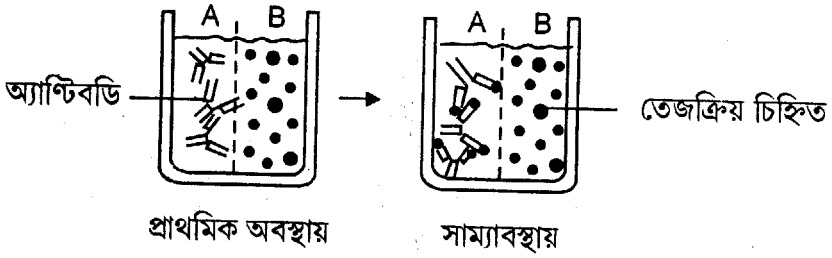
K1 কে প্রকাশ করা হয় লিটার / সেকেন্ড হিসেবে এবং K1-কে 1/সেকেন্ডে প্রকাশ করা হয়। সংযোজক ধ্রুবক K-কে ইকুইলিব্রিয়াম ডায়ালিসিল করে পরিমাপ করা হয়।

1. নিয়ন্ত্রিত পরীক্ষা (Control) ঃ অ্যান্টিবডি অনুপস্থিত



A এবং B প্রকোষ্ঠে একটি অর্ধভেদ্য পর্দা দ্বারা পৃথকীকৃত।

2. পরীক্ষা (Experimental) ঃ A-এর দিকে অ্যান্টিবডি আছে



চিত্র 12.1 : ইকিউলিব্রিয়াম ডায়ালিসিস দ্বারা অ্যান্টিবডি অ্যাফিনিটির নির্ধারণ

12.3 অ্যান্টিবডি অ্যাফিডিটি (Antibody avidity)

একটি স্থানের জন্য অ্যান্টিবডি আকর্ষণ (affinity) সবসময় অ্যান্টিজেন-অ্যান্টিবডি ক্রিয়ার প্রকৃত শক্তিকে বোঝায় না। যখন একটি জটিল অ্যান্টিজেন, যার বহুসংখ্যক অ্যান্টিজেনকে ডিটারমিন্যান্ট আছে, সেই অ্যান্টিজেনকে বহুবন্ধনকারী অ্যান্টিবডির সঙ্গে মিশ্রিত করলে একটি বন্ধনকারী স্থানে অ্যান্টিজেনের সংযুক্ত হওয়া

অপর একটি স্থানে সংযুক্ত হওয়াকে ত্বরান্বিত করে। এইরূপে বহুযোজী অ্যান্টিবডির সঙ্গে অ্যান্টিজেনের ক্রিয়াকে **অ্যাভিডিটি** বলে। IgM এর বহুযোজীতার জন্য এর অ্যাভিডিটি অনেক বেশি।

12.4 ক্রস-রিঅ্যাক্টিভিটি (Cross-Reactivity)

যদিও Ag-Ab ক্রিয়া অত্যন্ত স্বতন্ত্র, কখনও কখনও একটি অ্যান্টিজেন দ্বারা সক্রিয় অ্যান্টিবডি অপর একটি সম্পূর্ণ ভিন্ন অ্যান্টজেনের সঙ্গে ক্রস-রিঅ্যাক্ট বা আন্তঃবিক্রিয়া হয়। যদি দুটি ভিন্ন অ্যান্টিজেনে একই প্রকার এপিটোপ থাকে এবং তাদের রাসায়নিক ধর্ম যদি একই হয় তবে ক্রস-রিঅ্যাক্টিভিটি দেখা যায়। পলিস্যাকারাইড জাতীয় অ্যান্টিজেনের ক্ষেত্রে ক্রস-রিঅ্যাক্টিভিটি বেশী দেখা যায়। যেমন- ABO রক্তগ্রুপ (ABO-blood group) অ্যান্টিজেনের ক্ষেত্রে লোহিত রক্ত কনিকার বহিপর্দায় গ্লাইকোপ্রোটিন অনু থাকে। এই গ্লাইকোপ্রোটিনস্থিত প্রানীতয় শর্করা অনুর বিভিন্নতার জন্য A এবং B ব্লাড গ্রুপের অ্যান্টিজেনের মধ্যে পার্থক্য হয়। কোন ব্যক্তির উপরিউক্ত একটি অথবা দুটি অ্যান্টিজেন না থাকলে তাদের দেহের সিরামে ওই নিরুদ্দিষ্ট অ্যান্টিজেনের জন্য অ্যান্টিবডি তৈরি হয়। 'O' গ্রুপের ব্যক্তিদের Anti-A এবং Anti-B উভয় অ্যান্টিবডি আছে। ব্লাড গ্রুপের অ্যান্টিবডিগুলি অ্যান্টিজেনের ক্রস রিঅ্যাক্টিভিটির জন্য উৎপন্ন হয়েছে।

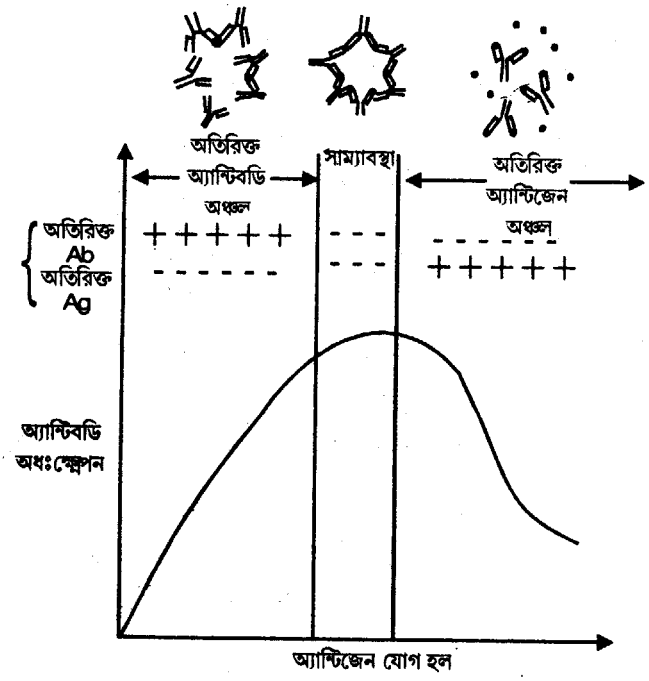
12.5 অধঃক্ষেপন ক্রিয়া (Precipitation Reaction) ঃ

জলীয় দ্রবণে একটি অ্যান্টিবডি এবং দ্রবণীয় অ্যান্টিজেনের ক্রিয়ায় একটি অধঃক্ষেপ সুস্পষ্টভাবে দেখা যায়। এই অধঃক্ষেপকে প্রেসিপিটিন (Precipitin) বলা হয়। যদিও Ag-Ab যৌগ কয়েক মিনিটের মধ্যে তৈরি হয়ে যায়, কিন্তু সুস্পষ্ট অধঃক্ষেপ তৈরী হতে এক থেকে দুদিন সময় লাগে।

ঐরূপে অদ্রবীভূত Ag - Ab ল্যাটিস যৌগ গঠন অ্যান্টিবডি এবং অ্যান্টিজেন উভয়ের যোজ্যতার পের নির্ভর করে ঃ—

- অ্যান্টিবডি অবশ্যই দ্বিযোজী হবে; একযোজী Fab দ্বারা অধঃক্ষেপ তৈরি হয় না।
- অ্যান্টিজেনকে অবশ্যই দ্বিযোজী বা বহুযোজী হতে হবে।

অধঃক্ষেপন ক্রিয়ায় অধঃক্ষেপনের পরিমাণ নির্ণয় করা যায়। কতকগুলি টেস্ট টিউবে নির্দিষ্ট পরিমাণ অ্যান্টিবডি নিয়ে তাতে বর্ধিত হারে অ্যান্টিজেন দেওয়া হয়। অধঃক্ষেপ তৈরি হওয়ার পর প্রতিটি টিউবকে সেন্ট্রেফিউজ করা হয় এবং অধঃক্ষেপের বড়ি বা পেলেট (pellet) ফেলা হয়। প্রতিক্ষেত্রে বর্ধিত অ্যান্টিজেনের ঘনত্বের সঙ্গে অধঃক্ষেপের সম্পর্কের একটি লেখাচিত্র প্রেসিলিপিটন কার্ভ (precipitin curve) অঙ্কন করা যায়। ইমিউনোডিফিউসান ক্রিয়া, ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরোসিস প্রভৃতির ভিত্তি হল ঐ অধঃক্ষেপন ক্রিয়া।



চিত্র 12.2 : অধঃক্ষেপন-এর লেখচিত্র

অতিরিক্ত অ্যান্টিবডি অঞ্চলে অধঃক্ষেপন ক্রিয়া বাধাপ্রাপ্ত হয় এবং দ্রবণে অ্যান্টিবডির উপস্থিতি নির্ণয় করা যায়; সাম্যাবস্থায় অ্যান্টিজেন এবং অ্যান্টিবডির ক্রিয়ায় সর্বাধিক অধঃক্ষেপন হয়। অতিরিক্ত অ্যান্টিজেন অঞ্চলে অধঃক্ষেপন বাধাপ্রাপ্ত হয় এবং দ্রবণে অ্যান্টিজেনের উপস্থিত নির্ণয় করা যায়।

12.6 অ্যাগ্লুটিনেশান বিক্রিয়া (Agglutination Reaction) ঃ

অ্যান্টিবডির সঙ্গে অ্যান্টিজেন অনুর ক্রিয়ায় সুস্পষ্ট ঘনীভূত দলা বা ক্লাম্প (clump) দেখা গেলে তাকে সংযুক্তকরণ বা অ্যাগ্লুটিনেশান বিক্রিয়া বলা হয়। ঐরূপ ক্রিয়ার জন্য অ্যান্টিবডিকে অ্যাগ্লুটিনিন বলে। অতিরিক্ত অ্যান্টিবডি অ্যাগ্লুটিনেশান ক্রিয়া রোধ করে; এইরূপ রোধকে **প্রোজেন এফেক্ট (Prozone effect)** বলা হয়। IgM একটি উপযুক্ত অ্যাগ্লুটিনিন।

ABO-blood grouping এর জন্য প্রতিনিয়ত অ্যাগ্লুটিনেশান ক্রিয়া ব্যবহৃত হয়। একটি স্লাইডে রক্ত নিয়ে তাতে A এবং B blood-group অ্যান্টিজেনের বিরুদ্ধে অ্যান্সিরো দেওয়া হয়। যদি লোহিত রক্ত কনিকায় অ্যান্টিজেন থাকে তখন অ্যাগ্লুটিনেশান হয় এব স্লাইডে সুস্পষ্ট দলা বা ঝাড় দেখা যায়। একজনের A-থেকে অপরজনকে রক্তদানের সময় অ্যাগ্লুটিনেশান ক্রিয়ার দ্বারা দাতা এবং গ্রহীতার ব্লাড গ্রুপ নির্ণয় করে নেওয়া হয়।

12.7 সারাংশ

অ্যান্টিজেন এবং অ্যান্টিবডির ক্রিয়ায় অসমযোজী বন্ধন যেমন— হাইড্রোজেন বন্ধন, আয়নীয় বন্ধন, হাইড্রোফোবিক বন্ধন এবং ভ্যানডার্ওয়ালস বন্ধন গুরুত্বপূর্ণ ভূমিকা গ্রহণ করে। অ্যান্টিজেন অ্যান্টিবডির ক্রিয়ায় একটিমাত্র বন্ধনকারী স্থানের শক্তি অ্যাফিনিটি দ্বারা পরিমাপ করা হয়। বহুযোজী অ্যান্টিজেনের সঙ্গে বহুযোজী অ্যান্টিবডির বন্ধনের মোট শক্তি অ্যাভিডিটি দ্বারা নির্ণয় করা হয়। দ্রবণীয় অ্যান্টিজেন অ্যান্টিবডির ক্রিয়ায় অধঃক্ষেপ তৈরী হয়। পার্টিকুলেট (Particulate) অ্যান্টিজেন এবং অ্যান্টিবডির (অর্থাৎ অ্যাগ্লুটিনেশান) ক্রিয়ায় ক্লাম্প বা একপ্রকার দলা বা ঝাড়ের সৃষ্টি হয়।

12.8 প্রশ্নাবলী ঃ

1. **সংক্ষিপ্ত উত্তর দিন ঃ—**

a) অ্যান্টিজেন অ্যাফিনিটি কাকে বলে?

b) অ্যান্টিজেন অ্যাফিনিটি ইকুইলিব্রিয়াম ডায়ালিসিস দ্বারা কিভাবে পরিমাপ করা হয়।

c) অ্যান্টিবডি অ্যাভিডিটি কাকে বলে?

d) ক্রস রিঅ্যাক্টিভিটি কাকে বলে?

e) অধঃক্ষেপন ক্রিয়া কাকে বলে?

f) অধঃক্ষেপন ক্রিয়া লেখচিত্রের সাহায্যে বুঝিয়ে দাও।

g) অ্যাগ্লুটিনেশান ক্রিয়া কাকে বলে? উদাহরণ সহযোগে লিখুন।

2. শূন্যস্থান পূরণ করুন ঃ—

a) অ্যান্টিবডির Fab অংশ যা _____ নামে পরিচিত তার দ্বারা অভিন্ন অথবা প্রায় অভিন্ন অ্যান্টিজেনের এপিটোপের সঙ্গে _____ বন্ধনের মাধ্যমে দৃঢ় যৌগ গঠিত হয়।

b) অ্যান্টিজেন অ্যান্টিবডির যৌগের ঘনত্বের সঙ্গে _____ এবং _____ ঘনত্বের তুলনা করে K-এর মান নির্ণয় করা যায়।

c) IgM _____ র জন্য অ্যাভিডিটি অনেক বেশি।

d) 'O' ব্লাড গ্রুপের ব্যক্তিদের _____ এবং _____ উভয় অ্যান্টিবডি আছে।

e) অ্যান্টিবডি এবং অ্যান্টিজেনের ক্রিয়ায় অতিরিক্ত অ্যান্টিবডি অ্যাগ্লুটিনেশান ক্রিয়া রোধে করে; এরূপ রোধকে _____ এফেক্ট বলে।

একক 13 ❑ তেজস্ক্রিয় অনাক্রম্যতার পরীক্ষা (Radioimmunoassay), উৎসেচক সংযোজিত অনাক্রম্যতার পরীক্ষা (Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) ও ইমিনোইলেক্ট্রোফোরেসিস (Immunoelectrophoresis)

গঠন

13.0 প্রস্তাবনা ও উদ্দেশ্য

13.1 তেজস্ক্রিয় অনাক্রম্যতা পরীক্ষা

13.1.1 নীতি ও প্রক্রিয়া

13.1.2 ব্যবহারিক উপযোগীতা

13.2 উৎসেচক সংযোজিত অনাক্রম্য নিবেশিত পরীক্ষা (ELISA)

13.2.1 পরোক্ষ এলিজা

13.2.2 স্যান্ডউইচ এলিজা

13.2.3 প্রতিযোগিতামূলক এলিজা

13.2.4 প্রয়োগ

13.3 ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরেসিস

13.3.1 ইমিউনো ইলেক্ট্রোফোরেসিস নীতি

13.3.2 প্রকারভেদ

13.4 প্রশ্নাবলী

13.0 প্রস্তাবনা ও উদ্দেশ্য ঃ

বিভিন্ন প্রকার ইমিউনো রসায়ন পদ্ধতি (Immuno-Chemical Technique) দ্বারা অ্যান্টিবডি এবং অ্যান্টিজেনের নির্ণয় এবং পরিমাপ করা হয়ে থাকে। এই ইমিউনো রসায়ন পদ্ধতি দ্বারা আনবিক স্তরে খুব সূক্ষতার সঙ্গে কোনপ্রকার সংক্রমণের (contaminating molecules) উপস্থিতি নির্ণয় করা যায়। তেজস্ক্রিয় অনাক্রম্যতার পরীক্ষা (Radio Immuno Assay) দ্বারা নমুনায় হরমোন, স্টেরয়েড অথবা ড্রাগের পরিমান নির্ণয় করা হয়। উৎসেচক সংযোজিত অনাক্রম্য নিবেশিত পদ্ধতি (Enzyme linked Immunosorbant Assay) দ্বারা অ্যান্টিবডি অথবা অ্যান্টিজেনের পরিমাপ করা হয়।

ইমিউনোইলেকট্রোফোরেসিস পদ্ধতি (IE) দ্বারা অ্যান্টিজেন এবং অ্যান্টিবডিকে একে অপরের থেকে আনবিক গুরুত্ব অনুসারে পৃথক করা হয়।

এই অধ্যায়টি পাঠ করে-

- বিভিন্ন প্রকার ইমিউনোরসায়ন পদ্ধতির সম্বন্ধে এবং তাদের বাস্তবজীবনে প্রয়োগ সম্বন্ধে অবহিত হবেন।
- বহুসংখ্যক রোগের নির্ণয় এবং তাদের প্রতিকার সম্বন্ধে জানতে পারবেন।
- সবচেয়ে কম কায়িক পরিশ্রম দ্বারা, একসঙ্গে অধিক পরিমাণ নমুনা সবচেয়ে কম খরচে নির্ণয় করার পদ্ধতি সম্পর্কে জানতে পারবেন।

13.1 তেজস্ক্রিয় অনাক্রম্যতা পরীক্ষা

রেডিওইমিউনো অ্যাসে (Radioimmuno Assay)

এটি অ্যান্টিজেন এবং অ্যান্টিবডি সনাক্তকরণের একটি সবচেয়ে সংবেদনশীল পদ্ধতি। 1960 সালে দুইজন অন্তক্ষরাগ্রন্থি বিশেষজ্ঞ S.A. Barson এবং Rosaline Yellow এই পদ্ধতিটির আবিষ্কার করেন। এই পদ্ধতি দ্বারা চিকিৎসাবিজ্ঞান ও প্রাণরসায়ন বিদ্যায় বিভিন্ন ড্রাগ, স্টেরয়েড ও হরমোনের আয়তনমাফিক বিশ্লেষণ করা হয়।

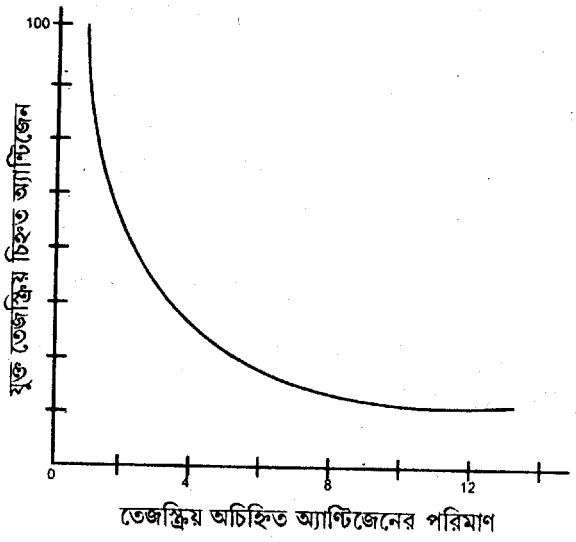
13.1.1. নীতি (Principle) ও প্রক্রিয়া (Method)

এই পদ্ধতিতে অতিরিক্ত আসক্তিযুক্ত অ্যান্টিবডির সঙ্গে রেডিওলেবেল এবং লেবেল না করা অ্যান্টিজেনের প্রতিযোগীতামূল বন্ধনের সৃষ্টি হয়। সাধারণত অ্যান্টিজেন গামা (γ) রশ্মি বিকিরণকারী আইসোটোপ ^{125}I দ্বারা চিহ্নিত করা (labelled) হয়। তেজস্ক্রিয় চিহ্নিত অ্যান্টিজেনকে একটি নির্দিষ্ট ঘনত্বে অ্যান্টিবডির সঙ্গে মিশ্রিত করা হয় যাতে অ্যান্টিবডির অ্যান্টিজেন বন্ধন করার স্থানগুলি সম্পৃক্ত হয়। এরপরে তেজস্ক্রিয় চিহ্নিত নয় এমন অজানা ঘনত্বের অ্যান্টিজেন মিশ্রিত করা হয়।

অ্যান্টিবডি, তেজস্ক্রিয় চিহ্নিত ও তেজস্ক্রিয় চিহ্নিত নয় এমন অ্যান্টিজেনকে পৃথক করে সনাক্তকরণ করতে পারে না এবং এর ফলে দুপ্রকার অ্যান্টিবডিতে প্রাপ্ত বন্ধনী স্থানে সংযুক্ত হওয়ার জন্য প্রতিযোগিতা করে। যত অধিক ঘনত্বের তেজস্ক্রিয় অচিহ্নিত অ্যান্টিজেন মিশ্রিত করা হয়, অনেক বেশি পরিমাণে তেজস্ক্রিয়

চিহ্নিত অ্যান্টিজেন অ্যান্টিবডির বন্ধনী স্থান থেকে বিতাড়িত হয়। এইভাবে দ্রবণে মুক্ত তেজস্ক্রিয় চিহ্নিত অ্যান্টিজেনের পরিমান নির্ণয় করে আমরা তেজস্ক্রিয় অচিহ্নিত অ্যান্টিজেনের ঘনত্ব নির্ণয় করতে একটি ক্যালব্রেশান বা পরিমাণ লেখচিত্র অঙ্কন করতে পারি।

রেডিওইমিনো অ্যাসে পরীক্ষায় যুক্ত অ্যান্টিজেনকে মুক্ত অ্যান্টিজেন থেকে পৃথক করার বিভিন্ন পদ্ধতি অবলম্বন করা হয়। যেমন, অ্যান্টিবডি অ্যান্টিজেন যৌগকে অধঃক্ষিপ্ত করার জন্য গৌন বিপরীত সমগোত্রীয় অ্যান্টিসেরাম নেওয়া হয় (Secondary anti-isotype antiserum)। γ কাউন্টার দিয়ে γ রশ্মি বিকিরণকারী তেজস্ক্রিয় আইসোটোপ ^{125}I নির্ণয় করা হয়।



চিত্র 13.1 : তেজস্ক্রিয় অচিহ্নিত অ্যান্টিজেনের পরিমাণ

13.1.2 ব্যবহারিক উপযোগীতা ঃ

i) রোগীকে রক্ত দেওয়ার (Blood transfusion) সময় দাতার রক্ত সংক্রামক কিনা তা পরীক্ষা করে নেওয়া হয় রেডিওইমিউনো আসে পরীক্ষা দ্বারা।

ii) তেজস্ক্রিয় আইসোটোপ সংযুক্ত করে কোন নমুনায় হরমোনের পরিমাণ নির্ণয় করতে পারা যায়।

সুবিধে (Merits) :

i) কোন যৌগে অনাক্রম্য বস্তুর উপস্থিতি; যা তেজস্ক্রিয় আইসোটোপ সংযুক্ত হতে পারে, নির্ণয় করা যায়।

ii) এই পদ্ধতিটি অত্যাধিক সংবেদনশীল এবং 'pgem^3 মাত্রার যৌগকে নির্ণয় করা যায়।

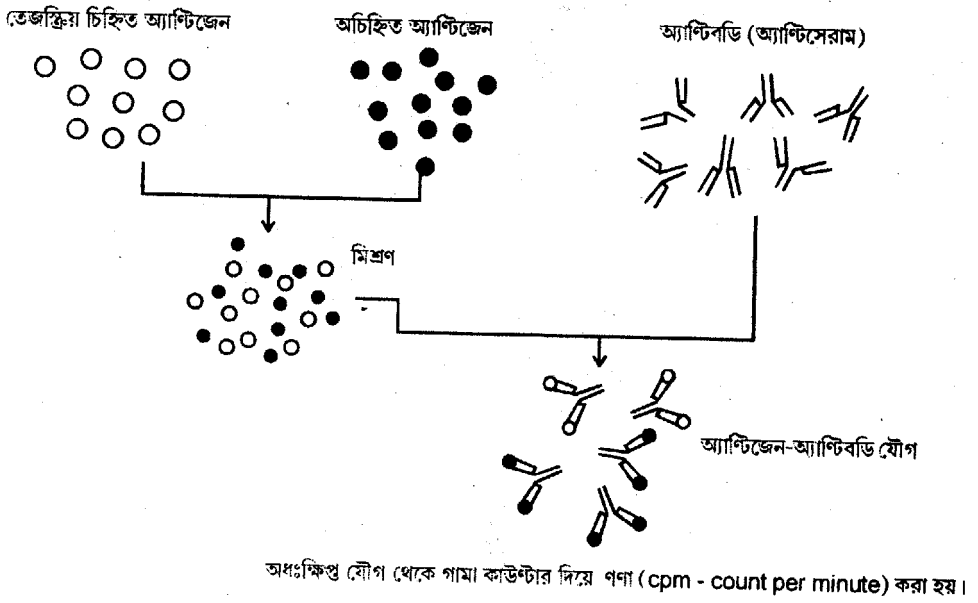
iii) এটি একটি স্বয়ংক্রিয় পদ্ধতি। সবচেয়ে কম কায়িক পরিশ্রমের প্রয়োজন এবং একসঙ্গে অধিক পরিমাণ নমুনা সবচেয়ে কম খরচে নির্ণয় করা যায়।

অসুবিধে (Demerits) :

i) তেজস্ক্রিয় আয়োডিন খুব দামী, এমনকি গামা সিনটিলেশান কাউন্টার ক্রয় করাও ব্যয়সাধ্য।

ii) ^{125}I এবং ^{131}I এর অর্ধায়ু যথাক্রমে 60 দিন এবং 8 দিন তাই খুব দ্রুত অ্যান্টিসেরামকে তেজস্ক্রিয় আইসোটোপ সংযুক্তকরণ করতে হয়।

iii) তেজস্ক্রিয় আয়োডিন থেকে তেজস্ক্রিয়তাজনিত বিপদের সম্ভাবনা থাকে।



চিত্র 13.2 : রেডিওইমিউনো পরীক্ষার পদ্ধতি

13.2 উৎসেচক সংযোজিত অনাক্রম্য নিবেশিত পরীক্ষা ঃ (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA)

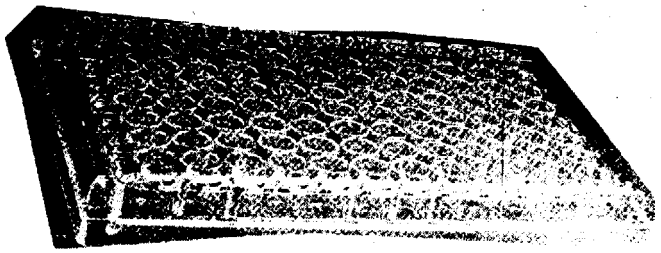
এলিজা (ELISA) পরীক্ষাটি রেডিওইমিওনো পরীক্ষার নীতিকে অনুসরণ করে সম্পন্ন করা হয়। তবে এলিজা পরীক্ষায় তেজস্ক্রিয় চিহ্নিত উপাদানের পরিবর্তে উৎসেচক ব্যবহার করা হয়। উৎসেচক যুক্ত অ্যান্টিবডি বর্ণহীন বিকারকের (substrate) সঙ্গে বিক্রিয়া করে রঙিন বিক্রিয়াজাত উপাদান তৈরী করে। কিছু উৎসেচক এলিজা পরীক্ষায় ব্যবহৃত হয়। যেমন অ্যালকালাইন ফসফাটেজ, হর্সরেডিস পেরোক্সিডেজ এবং p-নাইট্রোফিনাইল ফস্‌ফাটেজ।

যখন এইসব উৎসেচক নির্দিষ্ট বিকারকের সঙ্গে মিশ্রিত হয় তখন রঙীন বিক্রিয়াজাত উপাদান তৈরী হয়। এলিজা পরীক্ষাটি রেডিওইমিউনো পরীক্ষা থেকে নিরাপদ এবং স্বল্পমূল্যে পরীক্ষাটি করা যায়।

অ্যান্টিজেন এবং অ্যান্টিবডির পরিমাপন এবং নির্ধারণের ওপর নির্ভর করে এলিজা পরীক্ষাটির প্রকারভেদ করা হয়েছে। প্রতিটি এলিজা পরীক্ষা অ্যান্টিবডি এবং অ্যান্টিজেনের উপস্থিতিকে বিশ্লেষণ করে। (চিত্র 13.4)

13.2.1 পরোক্ষ এলিজা (Indirect ELISA) :

পরোক্ষ এলিজা কোন উপাদানে অ্যান্টিবডির উপস্থিতি নির্ধারণ করে। অ্যান্টিজেন মিশ্রিত মাইক্রোটাইটার কূপে (microtiter well) অ্যান্টিবডি যুক্ত করলে ঐ অ্যান্টিজেনের সঙ্গে অ্যান্টিবডি বিক্রিয়া করে। বিক্রিয়ার পরে বাকি মুক্ত অ্যান্টিবডিকে ধুয়ে ফেলা হয়। মাইক্রোটাইটার প্লেটে (চিত্র 13.3) অ্যান্টিবডি যুক্ত অ্যান্টিজেনকে উৎসেচক সংযুক্ত দ্বিতীয় বিপরীত সমগোত্রীয় অ্যান্টিবডি (Enzyme Conjugated Secondary Anti-isotype Antibody, Ab_2) দ্বারা নির্ধারণ করা হয়। বিক্রিয়া করার পরে বাকী মুক্ত Ab_2 ধুয়ে ফেলা হয় এবং উৎসেচকের জন্য বিকারক (substrate) যুক্ত করা হয়। মাইক্রোটাইটার প্লেটে উৎপন্ন বিক্রিয়াজাত রঙীন পদার্থটির বিশেষ Spectrophotometric plate reader দ্বারা পরিমাপ করা হয়। সাধারণতঃ HIV সংক্রমিত শরীরে উৎপন্ন অ্যান্টিবডি পরোক্ষ এলিজা দ্বারা সংক্রমণের ছয় সপ্তাহের মধ্যে নির্ধারণ করা যায়।



চিত্র 13.3 : মাইক্রোটাইটার প্লেটের চিত্র

13.2.2 স্যান্ডউইচ এলিজা (Sandwich ELISA) :

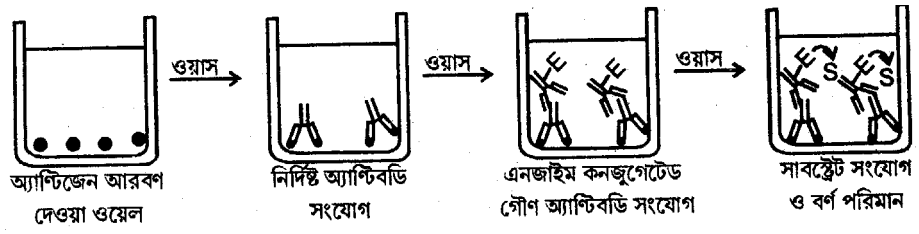
স্যান্ডউইচ এলিজা দ্বারা উপাদানের অ্যান্টিজেনের উপস্থিতি নির্ধারণ ও পরিমাপন করা হয়। এই পদ্ধতিতে প্রথমে অ্যান্টিবডিকে মাইক্রোটাইটার কূপে মিশ্রিত করা হয়। এই যুক্ত অ্যান্টিবডির সঙ্গে বিক্রিয় করার জন্য অ্যান্টিজেন মিশ্রিত উপাদান যোগ করা হয়। অধিক অ্যান্টিবডি ধুয়ে ফেলার পর ঐ অ্যান্টিজেনের সঙ্গে নির্দিষ্ট একটি দ্বিতীয় উৎসেচক সংযুক্ত অ্যান্টিবডি যোগ করা হয় এবং মাইক্রোটাইটার প্লেটে যুক্ত অ্যান্টিজেনের সঙ্গে বিক্রিয়া করতে দেওয়া হয়। অতিরিক্ত মুক্ত দ্বিতীয় অ্যান্টিবডি ধুয়ে ফেলার পর বিকারক যোগ করা হয় এবং রঙীন বিক্রিয়াজাত পদার্থটির পরিমাপন করা হয়। (চিত্র 13.4)

13.2.3 প্রতিযোগিতামূলক এলিজা (Competitive ELISA)

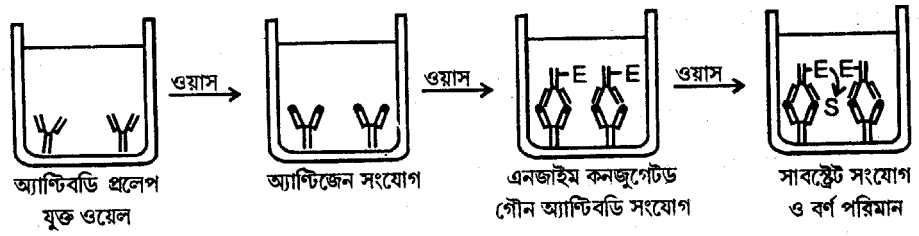
এই পদ্ধতি দ্বারা অ্যান্টিজেনের পরিমাপন করা হয়। প্রথমে অ্যান্টিবডি অ্যান্টিজেন মিশ্রিত উপাদানের সঙ্গে মিশ্রিত করা হয়। এই অ্যান্টিজেন-অ্যান্টিবডির মিশ্রণকে অ্যান্টিজনে আবৃত মাইক্রোটাইটার কূপে যুক্ত করা হয়। যত বেশি অ্যান্টিজেন উপাদানে থাকবে তত কম মুক্ত অ্যান্টিবডি পাওয়া যাবে, অ্যান্টিজেন আবৃত কূপের সঙ্গে যুক্ত হওয়ার জন্য। কূপে যুক্ত প্রাথমিক অ্যান্টিবডি (primary antibody) -র পরিমাপন করার

জন্য প্রাথমিক অ্যান্টিবডির সমগোত্রীয় নির্দিষ্ট উৎসেচক সংযুক্ত গৌন অ্যান্টিবডি (Enzyme Conjugated Secondary Antibody) যোগ করা হয়।

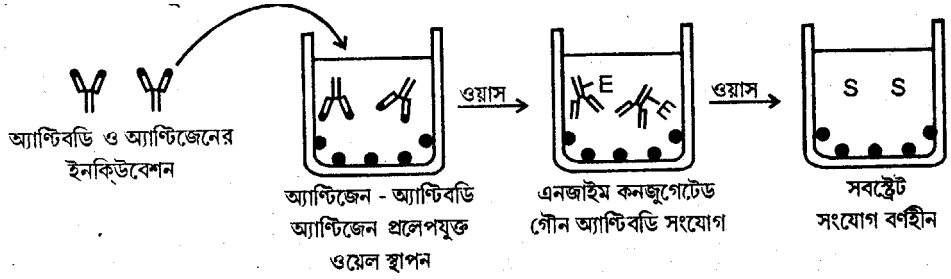
a) পরোক্ষ এলিজা (Indirect ELISA)



b) স্যান্ডউইচ ELISA



c) প্রতিযোগিতামূলক ELISA



চিত্র 13.4 : বিভিন্ন প্রকার ILISA প্রক্রিয়াতে অ্যান্টিবডি অথবা অ্যান্টিজেন চেনা, জানা অ্যান্টিবডি বা অ্যান্টিজেন দিয়ে স্টাণ্ডার্ড কার্ভ তৈরি করে তার সঙ্গে মিলিয়ে অ্যান্টিজেন বা অ্যান্টিবডির পরিমান জানা যায়। অ্যান্টিবডি জানা যায় পরোক্ষ ELISA (a) ; অ্যান্টিজেন জানা যায়, স্যান্ডউইচ ELISA-তে (b) অথবা প্রতিযোগিতামূলক ELISAতে; প্রতিযোগিতামূলক ELISAতে; অ্যান্টিজেনের পরিমান বর্ণ উৎপাদনের ব্যাস্তানুপাতিক

13.2.4. প্রয়োগ ঃ

1) কোন প্যাথোলজি ল্যাবোরেটরিতে মানুষের শরীরের বিভিন্ন উপাদানে IgG, IgE ভ্রূণীয় প্রোটিন অনাক্রম্য যৌগ এবং বিভিন্ন প্রকার হরমোন, ইনস্যুলিন, ইস্ট্রোজেন অথবা হিউম্যান কোরিওনিক গোনাডোট্রফিনের উপস্থিতি নির্ণয় করা হয় ELISA পরীক্ষা দ্বারা।

2) বিভিন্ন রোগের সংক্রমনে যেমন- হেপাটাইটিস B, হার্পিস, Candida albicans-এর আক্রমনে দেহে ডৎপন্ন অ্যান্টিবডির পরিমান নির্ণয়ে ELISA পরীক্ষা করা হয়।

13.3 ইমিউনোইলেকট্রোফোরেসিস (Immunoelectrophoresis; IE)

13.3.1. নীতি ঃ— ইমিউনোইলেকট্রোফোরেসিস পদ্ধতিতে অ্যান্টিজেন এবং অ্যান্টিবডিকে এদের মিশ্রণ থেকে পৃথক করা হয় বৈদ্যুতিক এবং ছিদ্র প্রতিচালন প্রক্রিয়ায় (Electrophoresis)।

প্রথমে অ্যান্টিজেন মিশ্রণকে ইলেকট্রোফোরেস করা হয় এবং নির্দিষ্ট ইলেকট্রিক চার্জের ভিত্তিতে পৃথক করা হয়। অ্যাগার জেল প্লেট (Agar Gel plate) বৈদ্যুতিক ক্ষেত্রের দিকে এবং তার সমান্তরালে সরু নালী (canal) কাটা হয় এবং এই নালীতে বিপরীত সেরাম বা অ্যান্টিসেরাম (antiserum) ভর্তি করা হয়। এরপর এই জেল প্লেটকে একটি আর্দ্র প্রকোষ্ঠে কিছুক্ষণ ইনকিউবেশনে রাখা হয়। ঠিক এই সময় অ্যান্টিজেন এবং অ্যান্টিসেরাম মধ্যস্থিত অ্যান্টিবডি পরস্পরের দিকে প্রবাহিত হয়। এর ফলে বিপরীত সেরামের সঙ্গে বিক্রিয়া করে একটি অধঃক্ষিপ্ত (precipiting band) ব্যান্ড রেখা তৈরি হয়। এইভাবে অ্যান্টিজেন মিশ্রনে প্রতিটি অ্যান্টিজেনকে সনাক্ত করা যায়। এই পরীক্ষাটি অনুবীক্ষণ স্লাইডে একটি নির্দিষ্ট বৈদ্যুতিক প্রবাহে 8mA-এ 1-2 ঘন্টা চালানো হয়। অধঃক্ষিপ্ত রেখাটিকে স্পষ্ট করে দেখার জন্য প্রোটিন রঞ্জক Comassie Brilliant Blue ব্যবহার করা হয়।

এই পদ্ধতিতে বিভিন্ন প্যাথোলজি ল্যাবরেটরিতে কোন রোগীর দেহে কোন নির্দিষ্ট অ্যান্টিজেন আছে কিনা তা নির্ধারণ করা হয়।

13.3.2. প্রকারভেদ ঃ-

ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরেসিস তিনরকম হয়—

i) ক্রসওভার ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরেসিস

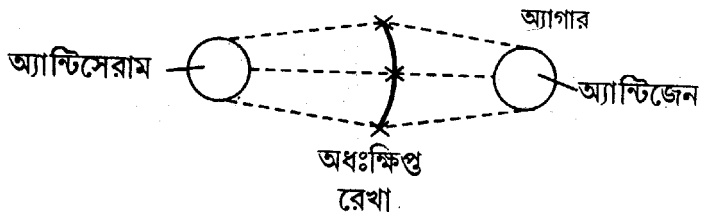
ii) রকেট ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরেসিস

iii) দ্বিমাত্রিক (Two-dimensional) ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরেসিস

13.3.2.1. ক্রসওভার ইমিউনোইলোক্ট্রোফোরেসিস (Crossover Immunoelectrophoresis)

এইপ্রকার ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরোসিস পদ্ধতিতে IgG অ্যান্টিবডি এবং অ্যান্টিজেন পরস্পরের বিরুদ্ধে পরিবাহিত হয়ে অধঃক্ষিপ্ত রেখা (precipiting band) তৈরী করে। এই পদ্ধতিতে সময় লাগে 15-20 মিনিট। এই পদ্ধতিটি অত্যাধিক সংবেদনশীল এবং সমস্ত অণুগুলি একে অপরের দিকে পরিবাহিত হয়।

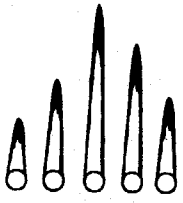
গোয়েন্দা বিভাগে এইপ্রকার ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরেসিস পদ্ধতি নিয়মিত ব্যবহার করা হয়।



চিত্র 13.5 : ক্রসওভার ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরেসিস

13.3.2.2. রকেট ইমিউনোইলোক্ট্রোফোরেসিস (Rocket Immunoelectrophoresis)

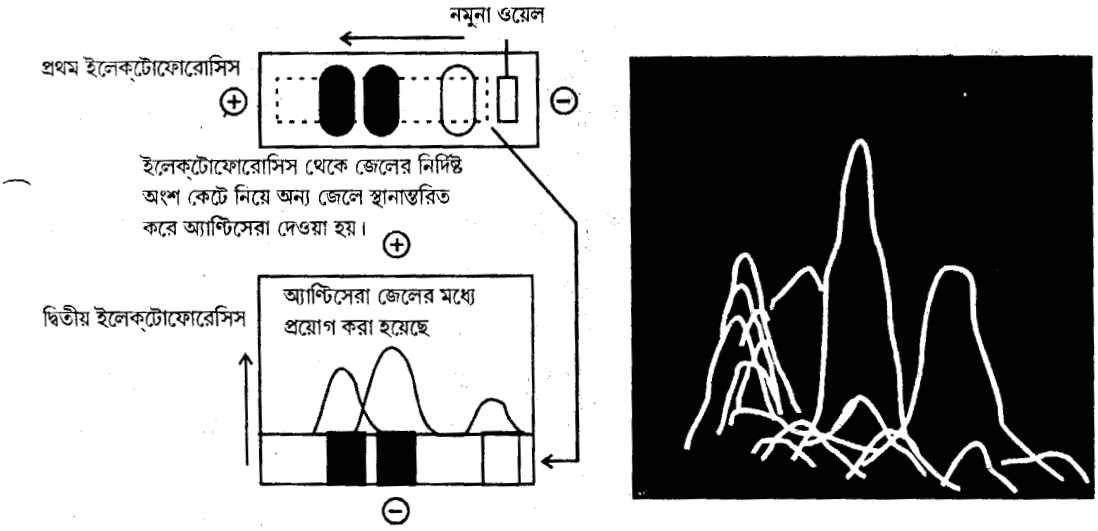
এই পদ্ধতিতে অ্যাগার (Agar) প্লেটে একটি কূপ (well) কাটা হয়, যার মধ্যে অ্যান্টিসেরাম এবং অ্যান্টিজেন উভয়কেই দেওয়া হয়। এরপর যখন তড়িৎ প্রবাহ চালনা করা হয় তখন অ্যান্টিজেন অ্যানোডের (anode) দিকে এবং অ্যান্টিবডি ক্যাথোডের (Cathode) দিকে পরিবাহিত হয়। এর ফলে অ্যাগার প্লেটে রকেটাকৃতির অ্যান্টিজেন অ্যান্টিবডি যৌগের অধক্ষেপঃ তৈরী হয়। এই রকেটের আকৃতি অ্যান্টিজেনের ঘনত্বের সঙ্গে সমানুপাতিক।



চিত্র 13.6 : রকেট - ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরেসিস

13.3.2.3. দ্বি-মাত্রিক ইমিউনোলোক্ট্রোফোরেসিস (Two-dimensional Immunoelectrophoresis)

এই পদ্ধতিতে অ্যান্টিজেনকে প্রথমে অ্যাগার প্লেটে ইলেক্ট্রোফোরেসিস করে পৃথক করে নেওয়া হয়। এরপর অ্যাগার প্লেটের থেকে উপযুক্ত খণ্ডটি কেটে নিয়ে চৌকো গ্লাস প্লেটে নেওয়া হয় এবং উপযুক্ত অ্যান্টিসেরামযুক্ত অ্যাগার ঐ গ্লাস প্লেটে জমানো হয়। এরপর রকেট ইলেক্ট্রোফোরেসিস করলে, অধঃক্ষিপ্ত চাপ বা রেখা (precipitin arc) দেখা যায়। আর্কের (arc) ক্ষেত্রফলের ওপর অ্যান্টিজেনের উপস্থিতি ও পরিমান নির্ণয় করা হয়।



চিত্র 13.7 : দ্বি-মাত্রিক ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরেসিস ও ডাইনে বিভিন্ন প্রেসিপিটিন কার্ভের ছবি।

এই প্রক্রিয়ায় জটিল অ্যান্টিজেন মিশ্রণের মধ্য থেকে অনেক অ্যান্টিজেনকে আলাদা করা যায়। প্রথমে অ্যান্টিজেন নমুনাকে ইলেকট্রোফোরেসিস করে নিয়ে তার উপর অ্যান্টিসেরাম দিয়ে সমকোণে আবার ইলেকট্রোফোরেসিস করা হয় (চিত্র 13.7)। দ্বিতীয় ইলেকট্রোফোরেসিসে প্রেসিপিটিন চূড়ার দৈর্ঘ্য অ্যান্টিজেন ঘনত্বের (চিত্র 13.7 ডাইনে) সমানুপাতিক।

13.4 প্রশ্নাবলী ঃ

1. সংক্ষিপ্ত উত্তর দিন ঃ—

ক) তেজস্ক্রিয় অনাক্রম্যতা পরীক্ষা বলতে কি বোঝেন?

খ) তেজস্ক্রিয় অনাক্রম্যতা পরীক্ষার নীতিটি বর্ণনা করুন?

গ) তেজস্ক্রিয় অনাক্রম্যতা পরীক্ষার সুবিধে এবং অসুবিধেগুলি বর্ণনা করুন।

ঘ) এলিজা পরীক্ষাটি কয় প্রকার ও কী কী?

ঙ) স্যান্ডউইচ এলিজা পরীক্ষাটির পদ্ধতি ও প্রয়োগ বর্ণনা করুন।

চ) প্রতিযোগিতামূলক এলিজা পদ্ধতিটির সংক্ষিপ্ত বিবরণ দিন।

ছ) ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরেসিস পদ্ধতিটির নীতি এবং পদ্ধতিটির সংক্ষিপ্ত বিবরণ দিন।

জ) ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরেসিস কয় প্রকার এবং কি কি?

ঝ) ক্রসওভার এবং রকেট ইমিউনোইলেক্ট্রোফোরেসিসের সংক্ষিপ্ত বিবরণ চিত্রসহ বর্ণনা করুন।

2. শূন্যস্থান পূরণ করুন ঃ—

ক) 1960 সালে দুইজন অন্তঃক্ষরাগ্রন্থি বিশেষজ্ঞ _____ এবং _____ তেজস্ক্রিয় অনাক্রম্যতা পদ্ধতিটি আবিষ্কার করেন।

খ) তেজস্ক্রিয় অনাক্রম্যতা পরীক্ষায় অতিরিক্ত আসক্তিযুক্ত _____ সঙ্গে রেডিওলেবেল এবং লেবেল না করা _____ প্রতিযোগীতামূলক বন্ধনের সৃষ্টি হয়।

গ) অ্যান্টিবডি অ্যান্টিজেন যৌগকে অধঃক্ষিপ্ত করার জন্য _____ নেওয়া হয়।

ঘ) _____ এবং _____ এর অর্ধায়ু যথাক্রমে _____ দিন এবং _____ দিন।

ঙ) ইলেকট্রোফোরোসিস পদ্ধতি দ্বারা অ্যান্টিজেন এবং অ্যান্টিবডিকে একে অপরের থেকে _____ অনুসারে পৃথক করা হয়।

একক 14 ❑ টিস্যু কালচার এবং মনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি [Tissue Culture & Monoclonal Antibody]

গঠন

14.1 প্রস্তাবনা ও উদ্দেশ্য

14.2 টিস্যু কালচারে প্রয়োজনীয় কিছু উপাদান

14.3 টিস্যু কালচারে প্রয়োজনীয় মাধ্যম

14.4 টিস্যু কালচার পদ্ধতি

14.5 মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি

14.5.1 হাইব্রিডোমা পদ্ধতি

14.5.2 হাইব্রিড কোষের নির্বাচন

14.5.3 ডি-নোভো ও সলভেজ পথ

14.5.4 মনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি তৈরি

14.5.5 প্রয়োগ

14.6 সারাংশ

14.7 প্রশ্নাবলী

14.1 প্রস্তাবনা ও উদ্দেশ্য ঃ

এই শতকের প্রথমদিকে (Jolly, 1903) পরীক্ষাগারে (*in vitro)* প্রাণী কোষ এবং কলাচাষের (cell and tissue culture) সূচনা হয়েছিল। Rosa Harrison (1907) পরীক্ষাগারে ব্যাঙের কলা নিয়ে তার চাষ অর্থাৎ তার পরিবর্ধন করার একটি উপযুক্ত পদ্ধতি আবিষ্কার করেন। তিন সাফল্যের সঙ্গে দেখিয়েছিলেন যে, **পরীক্ষাগারে প্রাণী** কোষ এবং কলা আদ্যপ্রাণীর অনুরূপ অনিয়ন্ত্রিতভাবে বিভাজিত হয়ে পরিবর্ধিত হতে পারে।

বর্তমানে জীববিদ্যা এবং প্রাণিবিজ্ঞানের বিভিন্নপ্রকার গবেষণা বৃহৎভাবে এই কলাচাষের (tissue culture) ওপর নির্ভরশীল। এই কলাচায বিজ্ঞানের বিভিন্ন ক্ষেত্রে এক বিশেষ প্রয়োগিক বিষয়।

i) অ্যান্টিভাইরাস ভ্যাক্সিন তৈরিতে যেখানে কোষের বহুবিভাজন এবং ভাইরাসের উপস্থিতি নির্ণয় করা যায়।

ii) ক্যান্সার গবেষণায়, যেখানে অনিয়ন্ত্রিত কোষ বিভাজনের পরীক্ষা করা যায়।

iii) কোষ সংযোজন

iv) মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি তৈরিতে

v) জীনগত রোগের নির্ণয়ে

vi) ভ্রূণের ক্রোমোজোমের গঠন নির্ণয়ে

vii) বিভিন্ন প্রকার ঔষুধ প্রস্তুতিতে এবং

viii) ত্বক ট্রান্সপ্ল্যান্টেশানে (Skin transplantation) এই প্রক্রিয়ার প্রয়োগ আছে।

কলাচায পদ্ধতিতে পরীক্ষাগারে বিশেষ মাধ্যমে বা কৃত্রিম পরিবেশে একটিমাত্র কোষ থেকে বহুকোষ ও কলা গঠনের মাধ্যমে প্রাণীদেহের কিছু তন্ত্রের সৃষ্টি হয়। টিস্যু কালচার অত্যন্ত নিয়ন্ত্রিত ভাবে ভৌত রাসায়নিক পরিবেশে (নির্দিষ্ট pH, তাপমাত্রা, অভিস্রবণ চাপ, O_2, CO_2) করা হয়ে থাকে।

14.2 টিস্যু কালচারে প্রয়োজনীয় কিছু উপাদান ঃ

1. ইনকিউবেটর (Incubator)
2. অটোক্লেভ (Autoclave)
3. ফ্রিজ (-70^oC)
4. সেকিং বাথ (Shaking bath)
5. পিপেট সিলিন্ডার
6. তরল N2 ফ্রিজ (-19^oC)
7. ইনভার্টেড মাইক্রোস্কোপ
8. ল্যামিনেটার ফ্লো হুড
9. কোষ গণক (cell counter)
10. pH মিটার
11. CO_2 ইনকিউবেটর
12. ভ্যাকুয়াম পাম্প

14.3 টিস্যু কালচারে ব্যবহৃত মাধ্যম ঃ

কালচার মাধ্যমে উপস্থিত মুখ্য উপাদানগুলি হল-

ক) অজৈব পুষ্টিকারক দ্রব্য

খ) জৈব পুষ্টিকারক দ্রব্য

গ) বৃধ্বিকারক হরমোন

ঘ) অ্যাগার (Agar)

ক) অজৈব পুষ্টিকারক দ্রব্যের মধ্যে C (কার্বন), H (হাইড্রোজেন), O (অক্সিজেন), N (নাইট্রোজেন), P (ফসফরাস), S (সালফার), Ca (ক্যালসিয়াম), K (পটাশিয়াম), Mg (ম্যাগনেশিয়াম), Fe (আয়রণ), Mn (ম্যাঙ্গানিজ), Cu (কপার), Zn (জিঙ্ক), B (বোরোন) ইত্যাদি প্রদান।

খ) **জৈব পুষ্টিকারক** দ্রব্যগুলি দুভাগে বিভক্ত—

(i) নাইট্রোজেন এবং (ii) কার্বন উৎসের দ্রব্য। নাইট্রোজেন উৎসের দ্রব্যগুলির মধ্যে বেশীরভাগ ভিটামিন এবং অ্যামিনো অ্যাসিড। কার্বন উৎসের দ্রব্যগুলির মধ্যে সুক্রোজ, গ্লুকোজ, ফ্রুক্টোজ এবং অন্যান্য শ্বেতসার জাতীয় দ্রব্য।

অন্যান্য পুষ্টি (nutrients) দ্রব্যগুলির মধ্যে কেসিন হাইড্রোলাইজেট (Casein hydrolysate), নারিকেল দুধ (Coconut milk), কর্ণ মিল্ক (Corn milk), মল্টএক্সট্র্যাক্ট (Malt extract), টোমাটো জুস (Tomato juice) এবং ইস্ট নির্যাস (Yeast extract) অন্যতম।

(গ) **বৃদ্ধিকারক হরমোনগুলির** মধ্যে অক্সিন, সাইটোকাইনিন এবং জিব্বারেলিন অন্যতম।

অক্সিন প্রধানতঃ কোষ বিভাজন এবং তার বিভেদীকরণে সাহায্য করে। সাধারণভাবে ব্যবহৃত অক্সিনগুলি হল IBA (Indole 3- butyric acid), NAA (Napthalene acetic acid), 2, 4-D (dichloro-phenoxyacetic acid)।

সাইটোকাইনিনও কোষ বিভাজন এবং তার বিভেদীকরণে সাহায্য করে। সাধারণভাবে ব্যবহৃত সাইটোকাইনিনগুলি হল BAP (benzylaminopurine) এবং কাইনেটিন (Kinetin) ।

(ঘ) কালচার মাধ্যমের অপর একটি গুরুত্বপূর্ণ উপাদান হল অ্যাগার। কলা কোষের বৃদ্ধির জন্য আগার একটি কঠিন মাধ্যম প্রদান করে।

14.4 টিস্যু কালচার পদ্ধতি ঃ

এই পদ্ধতিতে প্রথমে মিডিয়া, বিকারক এবং যন্ত্রপাতি জীবাণুমুক্ত করা হয়।

যে যানে বসে কাজটি করা হয় সেই স্থানটিকে ভাল করে 70% অ্যালকোহল দিয়ে মোছা হয়। যে কলার বা টিস্যুর কালচার করা হবে, তাকে খুব সাবধানে জীবানুমুক্ত পরিবেশে দেহ থেকে মুক্ত করা হয় এবং কলাটিকে ব্যালান্সড্ সল্ট দ্রবণে বা কোন উপযুক্ত মাধ্যমে স্থানান্তরিত করা হয়। কলাকে ছোট ছোট করে কাটা হয় এবং কোষগুলিকে সংগ্রহ করা হয় চালুনির মাধ্যমে। এই পৃথকীকৃত কোষগুলিকে কালচার প্লেটে উপযুক্ত পুষ্টিসম্মত মাধ্যমে (nutrient media) অধিক ঘনত্বে বর্ধিত করা হয়। নির্দিষ্ট সময়ে অন্তর মাধ্যম (media) কে পরিবর্তিত করা হয় এবং নতুন পুষ্টিকর দ্রব্যের যোগান দেওয়া হয়। নির্দ্দিষ্ট সময় অন্তর মিডিয়াটিকে বাতিল করে নতুন মিডিয়া দিতে হয়।

14.5 মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি (Monoclonal Antibody)

বেশীরভাগ অ্যান্টিজেনের বহুসংখ্যক এপিটোপ (Epitope) থাকে এবং এই এপিটোপগুলি 'B' কোষের বহু বিভাজনে ও বিভেদীকরণে সাহায্য করে। এইভাবে প্রাপ্ত সিরাম অ্যান্টিবডি হল বিভিন্ন প্রকার অ্যান্টিবডির সংমিশ্রণ যাদের প্রত্যেকটির একটি নির্দিষ্ট এপিটোপ থাকে। এইরূপভাবে পলিক্লোনাল অ্যান্টিবডি সংবেদনে অ্যান্টিজেনের আগ্রাসন, সঠিক স্থান নির্ণয় এবং কমপ্লিমেন্ট মধ্যয অ্যান্টিজেনের খণ্ডীকরণে সাহায্য করে। এই কারণে জীবদেহে পলিক্লোনাল অ্যান্টিবড়ির একটি সুস্পষ্ট উপকারিতা আছে। এই পলিক্লোনাল অ্যান্টিবডি জীবদেহের অভ্যন্তরে অনাক্রম্যতা অনেকগুণ বাড়িয়ে দেয় কিন্তু বিভিন্ন পরীক্ষাগারে অ্যান্টিসিরাম হিসেবে এর কর্মদক্ষতা একেবারে নেই বললেই চলে।

বিভিন্ন গবেষণায়, রোগ নির্ণয়ে এবং রোগ নিরাময়ে একটিমাত্র ক্লোন (clone) থেকে উদ্ভূত এবং একটিমাত্র এপিটোপযুক্ত মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি ব্যবহৃত হয়। মনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি নিম্নলিখিতভাবে তৈরি করা যায়।

14.5.1 হাব্রিডোমা পদ্ধতি ঃ

জর্জ কোহলার এবং সিজার মিলস্টেইন (1975) প্রথম মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি তৈরি করার পদ্ধতি আবিষ্কার করেন। পদ্ধতিটি নিম্নে বর্ণিত হল।

একটি স্বাভাবিক, সক্রিয় অ্যান্টিবডি নিঃসরণকারী B কোষের সঙ্গে মায়েলোমা কোষকে (ক্যান্সার কারক প্লাজমা কোষ) সংযুক্ত করে একটি সংকর (hybrid) কোষ তৈরী করা হয়, যাকে হাইব্রিডোমা (hybridoma) বলে।

এই হাইব্রিডোমা কোষের দুটি ধর্ম আছে— মায়োলোমা কোষের মত আমরণ বৃদ্ধি এবং কোষের মত অ্যান্টিবডি তৈরী। কালচার থেকে প্রাপ্ত হাইব্রিডোমা কোষ অসংখ্য মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি নিঃসৃত করে।

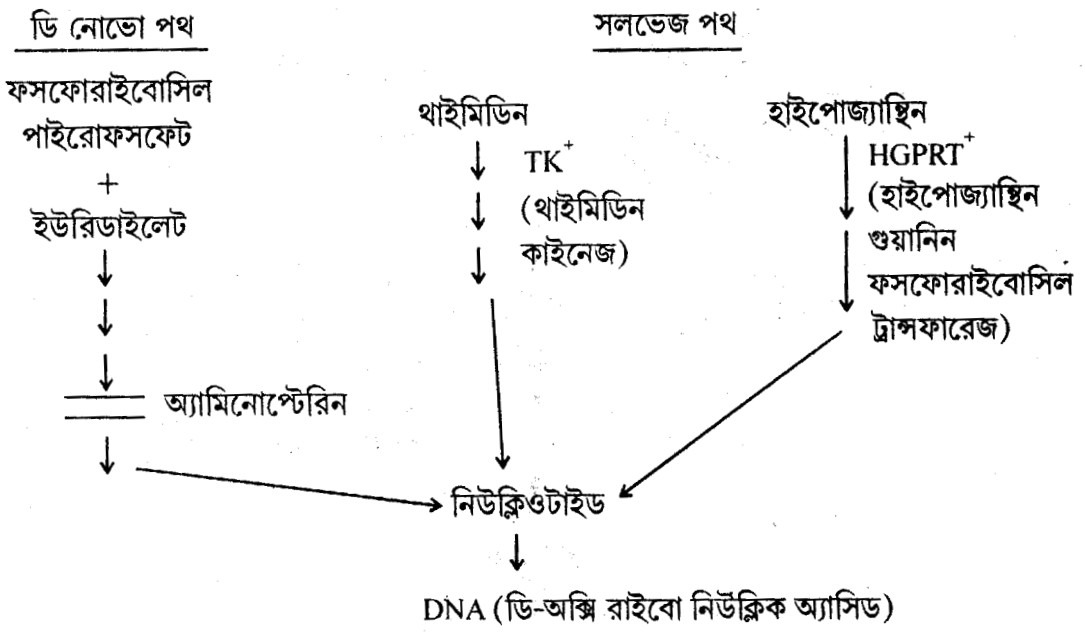
14.5.2 হাইব্রিড কোষের নির্বাচন ঃ

একটি সোমাটিক (দেহজ) কোষের সঙ্গে অপর একটি সোমাটিক কোষের মিলনে যে হাইব্রিড কোষ তৈরী হয় তাকে **হেটেরোক্যারিয়ন** বলে। এই দুই কোষের মিলন একপ্রকার নিষ্ক্রিয় আবরকযুক্ত ভাইরাস, সেন্ডাই ভাইরাস (Sendai Virus) সহ কোষ সাস্পেনসানে ঘটানো হয়। এই সেন্ডাই ভাইরাস দুই কোষের প্লাজমা পর্দার মিলন ঘটাতে সাহায্য করে।

প্রকৃতপক্ষে শতকরা খুব কম সংখ্যক কোষ মিলিত হয়ে হাইব্রিড কোষ তৈরী করে। বেশীরভাগ কোষই সমসত্ত্ব জনিতৃ কোষ (homogeneous parent cell), A - A / B - B খুব কম সংখ্যক A - B হাইব্রিড কোষ পাওয়া যায়। A - B হাইব্রিড কোষকে সবসময় মিলিত হয়নি এমন মাতৃকোষ ও সমসত্ত্ব জনিতৃ কোষ থেকে পৃথক করে রাখা হয়। A - B হাইব্রিড কোষ পাওয়ার সবচেয়ে সহজ উপায় হল এমন মাতৃকোষ নেওয়া যার নিউক্লিওটাইড সংশ্লেষণের যেকোন একটি পদ্ধতিতে মিউটেশন আছে। তারপর মিলিত কোষকে HAT মাধ্যমে (hypoxanthine aminopterin thymidine media) বৃদ্ধি ঘটানো হয় অর্থাৎ সংখ্যায় বাড়ানো হয়। HAT মাধ্যমে কোন মাতৃকোষ বাঁচতে পারে না, একমাত্র A - B হাইব্রিড কোষই বাঁচতে পারে। স্তন্যপায়ীর কোষ দুটি পথে নিউক্লিওটাইড সংশ্লেষ করে।

14.5.3 ডি-নোভো (de novo) এবং সলভেজ পথ (salvage pathway) :

ডি-নোভো পথে মিথাইল/ ফরম্যাইল গ্রুপ সক্রিয় টেট্রাহাইড্রোফোলেট থেকে স্থানান্তরিত হয় যা অ্যামিনোপ্টেরিনের উপস্থিতিতে বন্ধ হয়ে যায়। যেই ডি-নোভো পথ বন্ধ হয়ে যায় কোষ সলভেজ পথ ব্যবহার করে, যার ওপর অ্যামিনোপ্টেরিনের কোন প্রভাব থাকে না। দুটি উৎসেচক হাইপোজ্যান্থিন গুয়ানিন ফসফোরাইলেজ ট্রান্সফারেজ (HGPRT) এবং থাইমিডিন কাইনেজ (TK) সলভেজ পথে অনুঘটক হিসেবে কাজ করে। এই দুটি উৎসেচকের যেকোন একটিতে মিউটেশন হলে সলভেজ পথ বন্ধ হয়ে যায়। HAT মাধ্যমে অবস্থিত অ্যামিনোপ্টেরিন ডি-নোভো পথকে বন্ধ করে এবং থাইমিডিন ও হাইপোজ্যান্থিন সলভেজ পথে কোষের বৃদ্ধি ঘটায়।



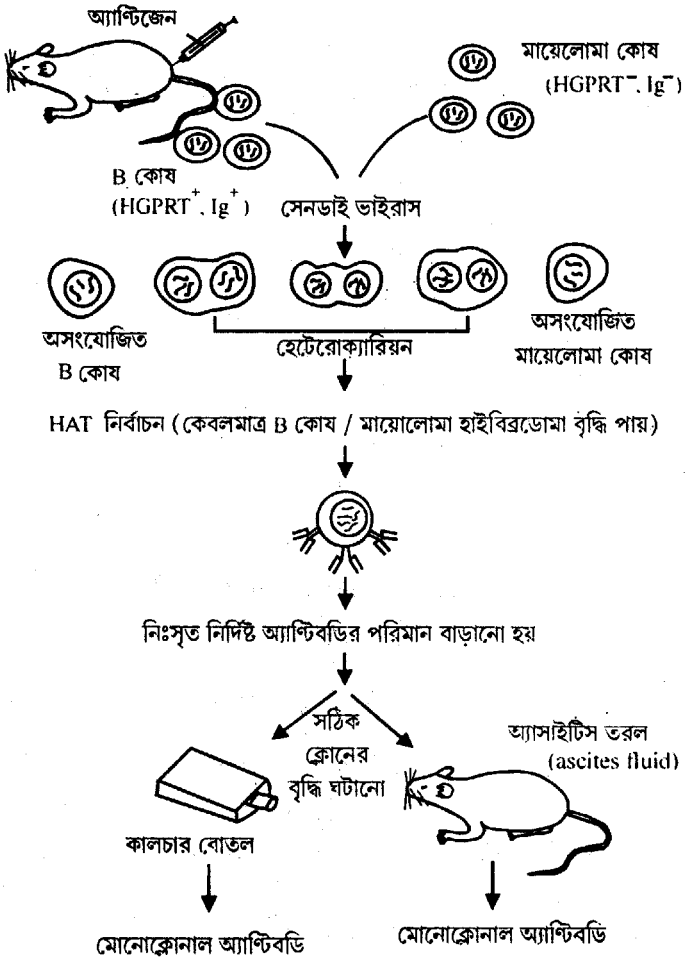
চিত্র 14.1 : ডি নোভো ও সলভেজ পথ

দুপ্রকার কোষ— একটিতে থাইমিডিন কাইনেজে মিউটেশন এবং অপরটিতে হাইপোজ্যান্থিন গুয়ানিন ফসফোরাইবোসিল ট্রান্সফারেজ-এ মিউটেশন আছে — এমন দুটি কোষকে সংযুক্ত করলে প্রাপ্ত একমাত্র সংকর কোষ (hybrid cell) উৎপন্ন হয় যার মধ্যে প্রয়োজনীয় সমস্ত উৎসেচক থাকে এবং এর ফলে HAT মাধ্যমে সলভেজ পথে এদের বৃদ্ধি হয়। এইভাবে একমাত্র হাইব্রিড কোষই HAT মাধ্যমে বৃদ্ধি পেতে পারে, অন্য কোষ, যা সংযুক্ত হতে পারেনি এবং সমসত্ব হেটেরোক্যারিয়ন কোষেরা, HAT মাধ্যমে বাঁচতে পারে না।

14.5.4 মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি তৈরি ঃ

মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি তৈরি করা হয় তিনটি ধাপে (চিত্র 14.2)—

- অ্যান্টিজেন প্রাইম্‌ড B কোষ এবং মায়েলোমা (myeloma) কোষ সংযুক্ত করে B কোষ হাইব্রিডোমার প্রস্তুতি এবং সংযুক্ত কোষটির নির্বাচন।
- নির্বাচিত B কোষ হাইব্রিডোমার ক্লোন (clone) উৎপাদন যা আকাঙ্খিত নির্দিষ্ট অ্যান্টিজেনের সাথে বিক্রিয়া করতে পারে এমন অ্যান্টিবডি নিঃসৃত করে।
- আকাঙ্খিত হাইব্রিডোমার বৃদ্ধিকরণ—



চিত্র 14.2 : মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি তৈরীর পদ্ধতি

কোহলার এবং মিলস্টেইন মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি তৈরী করার জন্য কোষ সংযোজন এবং হাইব্রিড কোষের HAT মাধ্যমে বর্ধিত হয়ে B-কোষের হাইব্রিডোমার প্রস্তুত করণের ওপর নির্ভর করেছিলেন।

সংযোজনের জন্য একপ্রকার কোষ মায়োলোমা বা HGPRT এবং Ig , মায়োলোমা কোষ সংযুক্ত কোষকে আমরণ বৃদ্ধির ধর্ম প্রদান করে কিন্তু কখনই HAT মাধ্যমে বৃদ্ধি পায় না ও অ্যান্টিবডি নিঃসৃত করে না এবং অপর প্রকার কোষ প্লীহা থেকে নেওয়া হয় যা প্রাইম্ড B কোষ নিয়ে গঠিত এবং HGPRT+ এব Ig+ কোষ সংযোজন ধাপের পর অ্যালিকটকে (aliquots) HAT মাধ্যমে কালচার করা হয় কূপযুক্ত প্লেটে (চিত্র 13.3)। এরপর 7-10 দিন বাদে দেখা যায়, বেশীরভাগ কূপেই কোষগুলি মৃত কিন্তু অল্প কিছু কূপে খুব অল্প সংখ্যক জীবিত কোষ দেখা যায়। এই জীবিত কোষগুলি নিরীক্ষণ করা যায় ফেজ কনট্রাস্ট অনুবীক্ষণে। প্রতিটি ক্লাস্টার হাইব্রিডোমা কোষের ক্লোনাল বৃদ্ধি (clonal expansion) নির্দেশ করে।

হাইব্রিডোমা কোষগুলি থেকে নিঃসৃত অ্যান্টিবডির মোনোক্লোনালিটি পরীক্ষার জন্য কোষগুলিকে পৃথক পৃথক কূপযুক্ত প্লেটে কালচার করা হয়। মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি পাওয়ার জন্য ক্লোন্ড হাইব্রিডোমা কোষগুলিকে নানাভাবে বর্ধিত করা হয়।

14.5.5 প্রয়োগ (Application) :

মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডির একটি বিশেষ উপকারিতা হল যে এটি সারা বিশ্বের বিভিন্ন পরীক্ষাগারে প্রমাণ বিকারক হিসেবে ব্যবহৃত হয়ে কোষীয় বিশুদ্ধতা রক্ষায় সাহায্য করে।

● মানুষ এবং অন্যান্য প্রাণী নমুনার লিম্ফোসাইট উপসংখ্যান (Subpopulation) :

লক্ষ্য কোষের নির্ধারক যেমন CD3, CD4, CD8, CD20 যা মানুষ এবং বিভিন্ন প্রাণীর লিম্ফোসাইটে দেখা যায়, সেগুলি মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি দিয়ে নিরীক্ষণ করা যায়।

● কোষীয় পৃথকীকরণ (Cell Isolation) এবং বিনষ্টীকরণ ঃ

নির্দিষ্ট অ্যান্টিজেনের বিরুদ্ধে বিশেষ অনাক্রম্য-নিয়ন্ত্রক কোষের পৃথকীকরণ করা হয় মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি দিয়ে।

বিপরীত T3 (CD3) মোনোক্লোনাল + কমপ্লিমেন্ট

↓

মানুষের মজ্জার T কোষের বিনষ্টকরণ

● রক্তের বিন্যাস এবং HLA প্রভেদকরণ ঃ

রক্তের বিন্যাস এবং HLA প্রকারভেদকরণে সবথেকে বিশ্বস্ত বিকারক হল মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি।

● **রোগ নির্ণয় ঃ**

বিভিন্ন প্রকার ক্যান্সার (Acute lymphatic Leukemia, Chronic myellogenous leukemia) ম্যালেরিয়া সংক্রমণ, HIV সংক্রমণ নিয়ন্ত্রণে মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি ব্যবহার করা হয়।

● **প্রেগন্যান্সি নির্দেশক ঃ**

গর্ভধারণ নির্ণয়ে (Positive Pregnancy) বিপরীত হিউম্যান কোরিওনক গোনাডোট্রফিন মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি ব্যবহার করা হয় এবং এই পদ্ধতিতে খুবই কম অর্থ ব্যয় হয়।

● **ভ্যাক্সিন (Vaccine) তৈরীতে ঃ**

টিকা বা ভ্যাক্সিন তৈরীতে এপিটোপ ম্যাপিং-এর জন্য মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি ব্যবহার করা হয়।

● **টিউমার বিনষ্টিকরণ ঃ**

টিউমারের জন্য নির্দিষ্ট মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি সিগেলা টক্সিন, ডিপ্‌থেরিয়া টক্সিনের সঙ্গে সংযুক্ত করে ইমিউনোটক্সিন (immunotoxin) হিসাবে টিউমার কোষের বিনষ্টিকরণে ব্যবহার হয়।

● **প্রোটিন বিশুদ্ধকরণ প্রক্রিয়ায় ঃ**

এই প্রক্রিয়ায় সায়ানোজের ব্রোমাইড ক্রোমাটোগ্রাফিক ধাত্রে (cyanen bromide - activated chromatography matrix) মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি যুক্ত করে মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি অ্যাফিনিটি কলাম তৈরি করা হয়, যার দ্বারা প্রোটিন বিশুদ্ধ করা যায়।

14.6 সারাংশ ঃ

পরীক্ষাগারে কৃত্রিম পরিবেশে একটিমাত্র কোষ থেকে কলা গঠনের পদ্ধতিকে কলাচাষ বা টিস্যু কালচার বলে। জীববিজ্ঞান এবং চিকিৎসা বিজ্ঞানের একটি অপরিহার্য অঙ্গ হল এই কলাচাষ পদ্ধতি। উদাহরণস্বরূপ মূলতঃ কলাচাষ পদ্ধতির উপর নির্ভর করেই ক্যান্সার গবেষণায়, জীনগত রোগ নির্ণয়ে, বিভিন্ন প্রকার প্রতিষেধক প্রস্তুতিতে, কোষ সংযোজন সংক্রান্ত গবেষণায় অগ্রগতি সম্ভব হয়েছে।

বর্তমান যুগের চিকিৎসাবিজ্ঞান এবং জীববিজ্ঞানের উন্নতির অন্যতম প্রধান হাতিয়ার হল মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি। এতে একই প্রকার B কোষ ক্লোনের মাধ্যমে সৃষ্টি হয়। মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডিগুলি একই প্রকার, সমসত্ত্ব এবং একটি মাত্র নির্দিষ্ট অ্যান্টিজেনের উপর ক্রিয়া করে। বিভিন্ন প্রকার রোগ নির্ণয়ে, যেমন— ক্যান্সার, ম্যালেরিয়া, AIDS সংক্রমণ নিয়ন্ত্রণে, প্রতিষেধক প্রস্তুতিতে, টিউমার বিনিষ্টকরণে মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডির ব্যবহার উল্লেখযোগ্য।

14.7 প্রশ্নাবলী ঃ

1. টিস্যু কালচার কাকে বলে? টিস্যু কালচারে ব্যবহৃত উপাদানগুলি কি কি?

2. টিস্যু কালচারের মাধ্যম (media) সম্পর্কে সংক্ষিপ্ত আলোচনা করুন।

3. মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি কাকে বলে? এর সঙ্গে পলিক্লোনাল অ্যান্টিবডির পার্থক্য কি?

4. হাইব্রিড কোষের নির্বাচন কি? ডি নোভো এবং সলভেজ পথটি সংক্ষেপে লিখুন।

5. মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডির প্রয়োগ সম্পর্কে বিষদ আলোচনা করুন।

6. শূন্যস্থান পূরণ করুন ঃ

ক) _____ এবং _____ (1975) প্রথম মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি তৈরী করার পদ্ধতি আবিষ্কার করেন।

খ) একটি স্বাভাবিক, সক্রিয় অ্যান্টিবডি নিঃসৃতকারী _____ সঙ্গে _____ কোষকে (ক্যান্সার কারক প্লাজমা কোষ) সংযুক্ত করে একটি সংকর কোষ তৈরী করা হয় যাকে _____ বলে।

গ) ডি নোভো পথে _____ গ্রুপ সক্রিয় টেট্রাহাইড্রোফোলেট থেকে স্থানান্তরিত হয় না _____ উপস্থিতিতে বন্ধ হয়ে যায়।

ঘ) দুটি উৎসেচক _____ এবং _____ সলভেজ পথে অনুঘটক হিসেবে কাজ করে।

ঙ) পজিটিভ প্রেগন্যান্সি নির্ণয়ে বিপরীত _____ _____ _____ মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি ব্যবহার করা হয় এবং এই পদ্ধতিতে খুবই কম অর্থ ব্যয় হয়।

চ) রক্তের _____ এবং _____ প্রকারভেদ করণে সবথেকে বিশ্বস্ত বিকারক হল মোনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি।

গ্রন্থপঞ্জী ঃ 1. Abdul K. Abbas and Andrew H. Lichtanas, 2000, Cellular and Molecular Immunology (5th edn.) Saudes.

2. Richard A. Glodsby, Thomas I. Kindt, Barbara A. Osborne 2000. Kuby Immunology (4th Ed.) W.H. Freeman and Company, NY.