

Humane antistoffen voor het maken van nieuwe reagentia voor rode bloedcel antigeen typering.

Gepubliceerd: 05-02-2020 Laatste bijgewerkt: 09-04-2024

Oplossen van bovengenoemde problemen door het klonen van nieuwe en bestaande antisera en de productie van recombinante antisera tegen RBC antigenen.

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving gestart
Type aandoening	Overige aandoening
Onderzoekstype	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Samenvatting

ID

NL-OMON50548

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

Ontwikkeling van recombinante antistoffen

Aandoening

- Overige aandoening

Synoniemen aandoening

alloimmunisatie, Bloedtransfusie

Aandoening

Patienten met antistoffen gericht tegen rode bloedcel antigenen

Betreft onderzoek met

Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Sanquin Bloedbank

Overige ondersteuning: Sanquin

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: antistoffen, recombinant

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

Monoklonale antistoffen die via recombinant-DNA technologie gemaakt worden uit antistof producerende B-cellen van patienten met antistoffen.

Secundaire uitkomstmaten

Niet van toepassing

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

Voor het typeren van rode bloed cel (RBC) antigenen van patienten en donoren worden agglutinatie gebaseerde technieken gebruikt met monoclonale antistoffen. Correcte typering is van het grootste belang voor een veilige bloed transfusie. Voor bijzondere bloedgroepen zijn maar beperkte antisera beschikbaar en sommige zijn niet betrouwbaar. In andere gevallen zijn de antisera van het IgG type, die niet tot een goede agglutinatie leiden. Om agglutinatie te bevorderen moet Coombs (IgG) antisera toegevoegd worden (indirecte agglutinatie). Deze problemen kunnen opgelost worden door gebruik te maken van *anti-bloedgroep* antisera van het IgM type, die gebruikt kunnen worden voor een directe agglutinatie reactie. Van belang is tevens dat huidige antisera voor bloedgroep bepalingen binnen 3-5 jaar niet meer beschikbaar zullen zijn. Er is daarom een dringende behoefte om nieuwe monoclonale antisera voor RBC typering te maken in ongelimiteerde hoeveelheden.

Doel van het onderzoek

Oplossen van bovengenoemde problemen door het klonen van nieuwe en bestaande antisera en de productie van recombinante antisera tegen RBC antigenen.

Onderzoeksopzet

Als Sanquin Immunohematologie Diagnostiek bij een patient een antistof of interest heeft gevonden, wordt via de behandelend arts toestemming gevraagd om de patient te mogen benaderen. Na toestemming van de patient wordt de patient benadert door de onderzoeker van Sanquin voor deelname aan het onderzoek. Na schriftelijk informed consent (zie F1) wordt eenmalig 36 ml bloed afgenomen bij de patient. Deze bloedafname wordt in overleg met de patient gedaan op een locatie van Sanquin of bij de huisarts. In dat laatste geval wordt een pakketje met benodigheden voor de bloedafname naar de patient gestuurd.

De antistoffen of interest zijn b.v. (maar niet exclusief) anti-Fya, -Fyb, -Kpa, -Kpb, -Lua, -Lub, -Xga, -Wra, -Cob and -s.

Uit de mononucleaire celfractie worden alle CD19+ B-cellen gezuiverd. Om te verrijken voor antistof-specifieke B-cellen, worden erythrocyten 'ghosts' aan de CD19+ B-cellen toegevoegd, waarna antistof-specifieke B-cell-ghost cel complexen worden gesorteerd in 96-wells platen. Er worden geen levende cellen van de patient bewaard. De B-cellen worden gedurende 7 dagen gekweekt, waarna supernatanten worden geoogst en getest op agglutinatie met een panel van antigeen positieve en antigeen negatieve RBC. Van de antistof producerende gekweekte B-cellen wordt RNA geextraheerd en reverse-transcribed. Voor RNA extractie worden de gekweekte cellen van de patient gelyseerd, dus er blijven dan geen levende cellen over. Het cDNA wordt geamplificeerd en PCR producten worden gesequenced en gecloneerd in vectors in de variabele kappa van de vier humane IgM of IgG subklasse constante regionen. HEK293 (Human Embryonic Kidney) cellen worden getransfecteerd met DNA, gekweekt gedurende 5 dagen, waarna IgG en IgM antistoffen worden gezuiverd uit het supernatant. Deze recombinante vectoren kunnen worden vermenigvuldigd voor een ongelimiteerde voorraad van de antistoffen. Het plasma van de patient met de polyclonale antistoffen wordt bewaard totdat het gebruikt wordt om de reactiviteit te vergelijken met de recombinante antistof.

Als 'proof of concept' zijn deze technieken recent met succes toegepast voor de productie van een unieke anti-Vel specifiek IgM antistof, die in staat was te onderscheiden tussen Vel-negatieve en zeer zwak positieve Vel antigeen positieve RBC m.b.v. directe agglutinatie (referentie: van der Rijst MVE, Lissenberg-Thunnissen SN, Ligthart PC, Visser R, Jongerius JM, Voorn L, Veldhuisen B, Vidarsson G, van den Akker E, van der Schoot CE. Development of a recombinant anti-Vel immunoglobulin M to identify Vel-negative donors. Transfusion. 2019;59:1359-1366).

Inschatting van belasting en risico

Bij de patient wordt eenmalig een venapunctie verricht t.b.v. een bloedafname van 36 ml bloed.

Het ondergaan van een venapunctie wordt als een minimale belasting met minimale risico's voor de proefpersoon gezien

Contactpersonen

Publiek

Sanquin Bloedbank

Plesmanlaan 125
Amsterdam 1066 CX
NL

Wetenschappelijk

Sanquin Bloedbank

Plesmanlaan 125
Amsterdam 1066 CX
NL

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Volwassenen (18-64 jaar)
65 jaar en ouder

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

Patienten (van 18 jaar en ouder) die antistoffen tegen RBC antigenen hebben gevormd. De specificiteit van de antistoffen is bepaald door Sanquin

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

Patienten jonger dan 18 jaar, wilsonbekwame patienten and patienten die de informatie niet begrijpen.

Onderzoeksopzet

Opzet

Type: Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Blinding: Open / niet geblindeerd

Controle: Geen controle groep

Doel: Diagnostiek

Deelname

Nederland

Status: Werving gestart

(Verwachte) startdatum: 30-06-2020

Aantal proefpersonen: 30

Type: Werkelijke startdatum

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO

Datum: 05-02-2020

Soort: Eerste indiening

Toetsingscommissie: METC Amsterdam UMC

Registraties

Opgevolgd door onderstaande (mogelijk meer actuele) registratie

Geen registraties gevonden.

Andere (mogelijk minder actuele) registraties in dit register

Geen registraties gevonden.

In overige registers

Register	ID
CCMO	NL64327.018.19