

# Produksi Antibodi Klon Tunggal dan Aplikasinya dalam Bidang Kedokteran Nuklir

Rochestri Sofyan

Pusat Pengkajian Teknologi Nuklir – BATAN, Jakarta

## PENDAHULUAN

Kemajuan dalam bidang bioteknologi yaitu ditemukannya teknologi hibridoma untuk memproduksi antibodi klon tunggal, merupakan salah satu terobosan yang sangat berharga dalam biomedik. Dengan ditemukannya antibodi klon tunggal berarti bahwa gagasan penggunaan antibodi dalam pencarian sasaran tumor sekaligus sebagai penyembuh tumor, segera menjadi kenyataan. Memang akhir-akhir ini antibodi klon tunggal sangat populer terutama dalam dunia kedokteran.

Dalam kedokteran nuklir, telah diaplikasikan beberapa jenis antibodi klon tunggal yang dikaitkan dengan penggunaan teknik *radioimmunoassay* (RIA) dan *immunoradiometric assay* (IRMA) serta untuk diagnosis *in vivo* melalui teknik *imaging*. Oleh karena antibodi klon tunggal ini bekerjanya sangat spesifik (unik), maka sangat menguntungkan baik dalam diagnosis maupun terapi. Dalam RIA dan IRMA, penggunaan antibodi klon tunggal dapat mengatasi masalah reaksi silang (*cross reaction*). Penelitian dan pengembangan masih terus berlangsung untuk memecahkan berbagai masalah. Usaha dan uji coba yang sedang banyak dilaksanakan antara lain adalah pencarian pembuatan antibodi klon tunggal yang benar-benar murni dalam skala produksi, pemilihan radionuklida dan teknik penandaan yang cocok, pemilihan antigen yang sesuai, serta pemilihan metode pemasukan ke dalam tubuh pasien yang efektif.

## PRODUKSI ANTIBODI KLON TUNGGAL

Dalam tubuh hewan tingkat tinggi terdapat limfosit B yang menghasilkan protein spesifik yang beredar dalam plasma yang disebut antibodi atau immunoglobulin (Ig). Bila zat asing yang bermolekul besar dengan bobot molekul 1000 – 10000 seperti protein dan polisakarida masuk ke dalam tubuh, maka akan dihasilkan antibodi terhadap antigen tersebut. Antigen dapat pula berupa molekul kecil yang disebut hapten misalnya suatu toksin

yang bersenyawa dengan senyawa bermolekul besar seperti serum albumin. Ig mempunyai daerah pengikatan atau *binding site* yang spesifik terhadap suatu determinan pada antigen. Setiap limfosit B menghasilkan Ig tunggal yang spesifik hanya untuk satu determinan pada antigen.

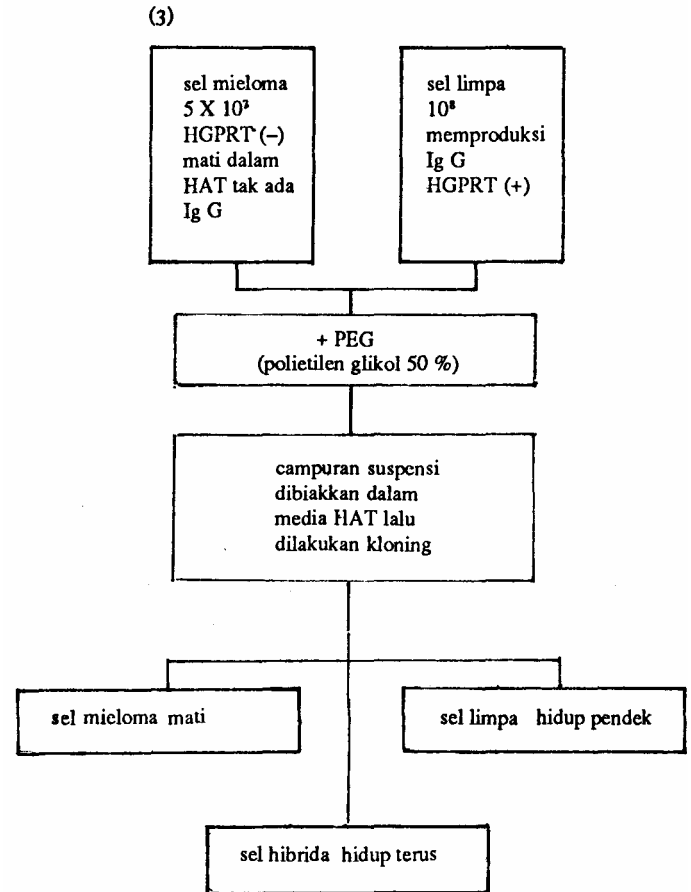
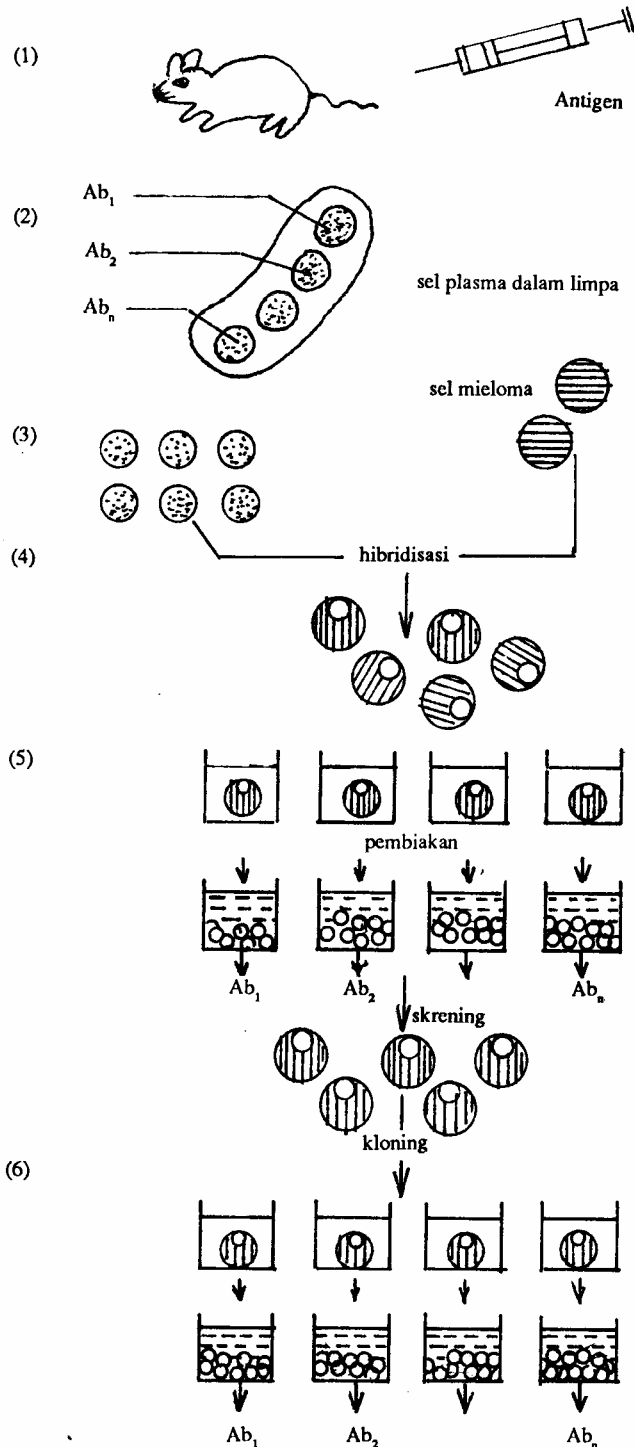
Cara konvensional untuk memperoleh antibodi adalah dengan menyuntikkan vaksin pada hewan percobaan. Setelah beberapa waktu dan hewan tersebut cukup banyak mengandung antibodi, darah hewan diambil lalu antibodinya diisolasi. Antibodi yang dihasilkan dengan cara konvensional ini tidak murni, karena ternyata antigen yang paling murni sekalipun masih mengandung lebih dari satu determinan. Oleh sebab itu, walaupun imunisasi dilakukan dengan menggunakan antigen yang murni, tetap akan dihasilkan antibodi yang poliklonal yang terdiri dari campuran berbagai macam antibodi yang mempunyai *binding site* berbeda-beda. Seandainya limfosit B dapat diambil dan dapat diklonisasi dalam kultur jaringan, maka dapat dihasilkan molekul antibodi yang mempunyai satu spesifitas (monospesifik) yang populer disebut antibodi klon tunggal. Sayangnya sel yang dapat memproduksi antibodi ini tidak dapat tumbuh atau hidup dalam kultur jaringan. Kemungkinan untuk memproduksi antibodi klon tunggal baru terbuka setelah ditemukannya teori hibridoma.

Lahirnya teknologi hibridoma dimulai dan pengamatan Georges Köhler dan Cesar Milstein dari Cambridge, Inggris pada tahun 1975. Sel mieloma tikus yang merupakan sel kanker, dapat memproduksi Ig nonspesifik tapi identik dalam jumlah banyak dalam kultur jaringan. Berdasarkan pengamatan tersebut, lalu dicoba dilakukan penggabungan (fusi) sel mieloma dengan limfosit B hewan yang telah dipaksa membuat antibodi khusus karena hewannya telah diimunisasi dengan penyuntikan antigen. Hasil penggabungan ini ternyata dapat hidup dalam kultur jaringan. Dalam media polietilen glikol (PEG), dapat

menghasilkan klon yang mempunyai sifat sel limfosit sebagai penghasil antibodi yang monospesifik dan sifat hidup tak terbatas dari sel mieloma. Selanjutnya sel-sel hibridoma diselidiki; sel yang membentuk antibodi tertentu tadi diteruskan pembiakannya, maka dapat dihasilkan antibodi klon tunggal secara terus menerus. Penemuan teknologi hibridoma ini dinilai se-

bagai suatu terobosan paling penting dalam perkembangan biomedik pada dasawarsa tahun 1970-an. Berkat jasa dan penemuannya tersebut, Georges Kbhler dan Cesar Milstein memperoleh hadiah Nobel untuk bidang kedokteran pada tahun 1984. Produksi antibodi klon tunggal melalui teknik hibridoma dapat dilihat pada **gambar 1**.

**Bagan 1. Produksi Antibodi Rion Tunggal Melalui Teknik Hibridoma**



Keterangan :

1. Hewan disuntik antigen (dibooster) secara intravena.
2. Pengaktifan limfosit B pada limpa, mencapai puncaknya setelah 3 -4 hari dibooster.
3. Limfosit B (L) diambil dengan cara mengambil limpa lalu disuspensi.
4. Dijusikan dengan sel mieloma (M) dihasilkan sel :



5. Dibiakkan dan skrening dalam media hipoxanfin aminophterin timidin (HAT). Sel yang tidak mengandung enzim hipoxantin guanosil fosforibosil transferase (HGPRT) seperti sel mieloma tidak dapat tumbuh dalam media HAT. Sel yang tinggal hidup adalah monokaryon limfosit (hidupnya pendek) dan sel heterokaryon. Karena sel hibridoma memiliki enzim HGPRT yang berasal dari sel limpa, maka dapat tumbuh dalam HAT; sehingga akhirnya tinggal sel hibridoma saja yang dapat hidup. Dalam teknik ini sel mieloma yang digunakan tidak boleh mengandung enzim HGPRT. Selain itu, sel mieloma harus bebas antibodi artinya tidak membuat antibodi yang dibuat oleh limfosit B akan dihibridisasikan. Sel mieloma dapat diambil dari mencit, tilais atau kelinci. Sebaiknya sel mieloma diambil dari spesies yang

sama dengan spesies dimana limfosit B-nya berasal. Karena hibrida hasil fusi dari spesies yang tidak sama, tidak stabil.

6. Campuran fusi diseleksi, diambil klon tertentu yang mempunyai keaktifan antibodi tertentu yang diinginkan. Pada seleksi hibridoma ini, pertamanya sel hibridoma dipisah-pisahkan secara manual ke dalam kultur media, kemudian diseleksi mana yang menghasilkan antibodi yang diinginkan. Pada proses seleksi yaitu untuk analisis titer, aviditas dan kespesifikan antibodi yang dihasilkan, diperlukan antigen-antigen spesifik yang sesuai. Penganalisisan dapat dikerjakan antara lain dengan metode "enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)", metode mikroskopi immunofluoresensi, pewarnaan peroksidase di alas coupes beku, metode RIA dan IRMA.

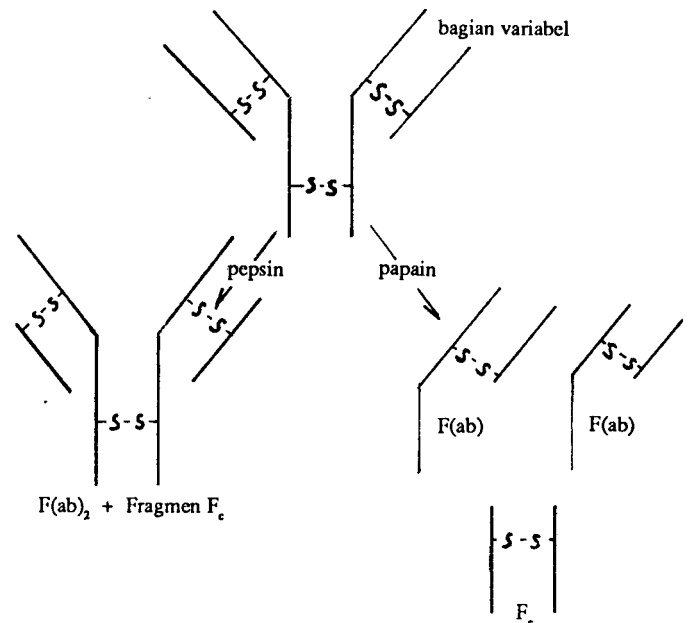
Setelah diperoleh sel hibridoma yang diinginkan, sel hibridoma tersebut direklonisasi. Antibodi yang dihasilkan diseleksi kembali. Selanjutnya dilakukan reklonisasi, seleksi lagi, demikian seterusnya sampai benar-benar yakin yang diperoleh adalah sel klon tunggal yang diinginkan. Reklonisasi beberapa kali penting, agar diperoleh sel klon tunggal yang stabil. Sel klon tunggal diperbanyak, kemudian dibiakkan dalam jumlah masal. Pembiakan dapat dilakukan melalui kultur jaringan atau dalam tubuh mencit (*mouse asciters*). Pembiakan dengan cara *mouse asciters* akan menghasilkan antibodi klon tunggal yang lebih pekat daripada kultur jaringan, namun diperlukan mencit dalam jumlah banyak dan tidak mungkin dibuat antibodi klon tunggal manusia. Pada pembiakan dengan kultur jaringan memang dihasilkan antibodi klon tunggal dengan konsentrasi yang lebih rendah, akan tetapi metode ini mempunyai beberapa kelebihan. Produksinya lebih praktis dan lebih efektif, serta dapat dikembangkan ke pembuatan antibodi klon tunggal manusia.

Umumnya pada pembuatan sel hibridoma digunakan sejenis tikus yang disebut *murine*, menghasilkan antibodi klon tunggal dari hibridoma manusia-murine yang disebut *human anti murine antibodies*, (*HAMA*) untuk tujuan klinis. Pada saat ini telah dikembangkan pembuatan antibodi klon tunggal dari hibridoma manusia-manusia, karena antibodi dari *murine* merupakan benda asing bagi tubuh manusia, sehingga akan menimbulkan reaksi alergi bagi tubuh manusia.

Sel hibridoma terutama menghasilkan IgG, yang mempunyai bobot molekul sekitar 15.000. Molekul IgG terdiri dari 2 rantai asam amino panjang yang disebut rantai H (*heavy*) dan 2 rantai asam amino pendek disebut rantai L (*light*). Kekompakan molekul terjadi karena adanya jembatan disulfida yang mengikat kedua rantai tersebut. IgG terdiri dari 2 fragmen yaitu fragmen  $F_c$  dan  $F_{ab}$ . Fragmen  $F_c$  ini merupakan bagian dari IgG yang tetap dan sama untuk semua molekul IgG dari *subelass* tertentu, dan bagian ini yang mengaktifkan komponen-komponen sistem imun. Ragmen  $F_{ab}$  mempunyai 2 tempat pengikatan antigen atau *antigenic binding site*, disebut daerah variabel, yang unik untuk setiap antibodi klon tunggal. Bagian ini merupakan bagian yang menentukan kespesifikan suatu antibodi (**gambar 2**).

Sel hibridoma mengandung kromosom dari sel mieloma dan sel limfosit, setiap kromosom menghasilkan molekul antibodi hibridoma dengan rantai H dan L dari sel induk yang berbeda. Dalam seleksi pembuatan antibodi klon tunggal, harus dicari klon hibridoma yang kromosomnya hanya mengandung

**Gambar 2. Struktur Antibodi**



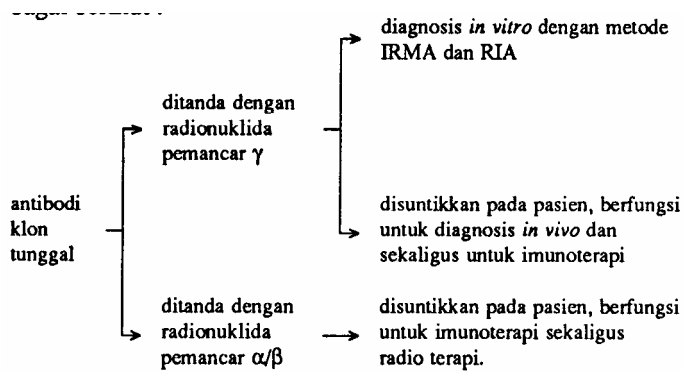
rantai H dan L dari limfosit yang diimunisasi. Oleh sebab itu, pada pembuatan antibodi klon tunggal ini, sebaiknya sel mieloma diambil dari spesies yang sama dengan spesies asal limfosit B. Fragmen  $F_c$  dari molekul antibodi diduga merupakan penyebab terjadinya reaksi alergi, fragmen ini harus dihilangkan yaitu dengan cara hidrolisis dengan enzim pepsin, untuk memperoleh fragmen  $F(ab)_2$ . Bila digunakan enzim papain akan diperoleh 2 fragmen  $F_{ab}$  yang monovalen yang mempunyai aviditas yang lebih rendah dari  $F(ab)_2$  yang divalen. Untuk mengatasi timbulnya reaksi alergi pada pembuatan antibodi klon tunggal yang berasal dari sel hibridoma hewan, dapat digunakan enzim pepsin untuk memperoleh fragmen  $F(ab)_2$  tanpa adanya fragmen  $F_c$ .

#### APLIKASI DALAM KEDOKTERAN NUKLIR

Penggunaan antibodi klon tunggal dalam bidang kedokteran khususnya 'kedokteran nuklir, tidak hanya terbatas untuk keperluan terapi akan tetapi juga untuk diagnosis baik *in vitro* maupun *in vivo*. Vaksin bioteknologi pertama yang diaplikasikan secara luas, adalah vaksin untuk mencegah penyakit hepatitis B yang dikenal dengan nama *rekombivax*. Kemudian muncul antibodi klon tunggal yang diberi nama *orthoclone OKT3* untuk mencegah reaksi penolakan pasca pencangkokan ginjal. Akhir-akhir ini telah banyak dihasilkan antibodi klon tunggal terutama untuk diagnosis dan terapi penyakit kanker.

Dalam penggunaannya di bidang kedokteran nuklir, terutama untuk diagnosis dan terapi, antibodi klon tunggal harus ditandai dengan isotop radioaktif. Prinsip penggunaan teknik ini cukup sederhana. Antibodi klon tunggal terhadap tumor ganas tertentu yang bertanda radioaktif pemancar sinar gamma (misalnya  $^{125}I$ ), bila disuntikkan ke dalam tubuh pasien yang diduga menderita tumor tersebut, akan terbawa oleh aliran darah dan akhirnya terakumulasi pada jaringan tumor. Dalam hal ini, anti-

bodi anti tumor berikatan secara spesifik dengan jaringan tumor yang berfungsi sebagai antigen. Oleh karena antibodi yang digunakan monospesifik, maka antibodi yang disuntikkan hanya akan terakumulasi pada jaringan tumor, tidak terjadi penyebaran keradioaktifan pada jaringan lain. Dengan menggunakan suatu alat (kamera gamma) yang diletakkan di luar tubuh, lokasi tumor dengan metastasisnya dapat diamati secara jelas, tanpa harus melakukan biopsi atau cara lain. Jika yang dikaitkan dengan antibodi klon tunggal tadi suatu pemancar sinar alfa yang jarak tempuhnya pendek dan dipilih yang mempunyai *linear energy transfer* (LET) yang tinggi, maka pengumpulan antibodi selain memberi kesempatan penyembuhan secara imunoterapi, juga dibantu oleh penyembuhan lewat penyinaran (radioterapi). Secara garis besar penggunaan antibodi klon tunggal untuk diagnosis dan terapi dalam kedokteran nuklir, dapat digambarkan sebagai berikut :



Jenis antibodi klon tunggal yang telah banyak beredar untuk diagnosis dan terapi penyakit kanker antara lain adalah CEA, CA 19-9, CA 15-3 dan CA 125 untuk diagnosis kanker leher rahim. Penggunaan antibodi klon tunggal untuk diagnosis dan terapi penyakit kanker telah menarik banyak ahli dari Persatuan Ahli Kanker Internasional. Para ahli berpendapat bahwa penemuan monoklonal antibodi membuka harapan untuk diagnosis dan penyembuhan penyakit kanker secara sempurna. Penelitian ke arah diperolehnya penemuan-penemuan baru untuk memerangi penyakit kanker, giat dikerjakan di berbagai pusat penelitian di seluruh dunia. Para ahli meramalkan bahwa dalam beberapa tahun mendatang akan ada gelombang baru dalam biomedik, yaitu terapi kanker dengan menggunakan antibodi klon tunggal.

#### KEPUSTAKAAN

1. Keenan AM, Harbari JC, Larson SM. Monoclonal antibody in nuclear medicine, J. Nucl. Med. 1985; 26: 531.
2. Zurawski JR. VR. Application of monoclonal antibodies to in vitro cancer diagnosis, Int. J. Appl. Radiat. Isot. 1987; 37: 80.
3. Senekowitsch R, et al. New tumour markers and their monoclonal antibody, 4th Symposium on Tumour Markers, Hamburg, GSF Munchen, 1987.
4. Hurrell JGR. Monoclonal Hybridoma Antibodies: Techniques and Application, Boca Raton, Florida: CRC Press. Inc. 1982. bal. 5.

