رادیوایمونوسینتی گرافی از موش BALB/c ماده دارای تومور پستان پیوندی با استفاده از آنتی بادی منوکلونال PR81 نشاندار شده با تکنسیوم به روش مستقیم

مجتبی صلوتی[1*]، حسین رجبی[2]، حسین بابایی[3]، محمد جواد رسایی[4]، رضا نجفی[5]، محمد مزیدی[6]، محمد شفیعی[7]، زهیر محمد حسن[8]، احمد بیطرفان رجبی[1]، جواد محمد نژاد[9]، محمد تقی الطریحی[10]، نبی ا... نامور[11]

۱- دانشجوی دکتری تخصصی فیزیک پزشکی، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۲- استادیار، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۳- استادیار، بخش رادیوایزوتوپ، مرکز تحقیقات هسته ای، سازمان انرژی اتمی ایران، تهران، ایران.
۴- استاد، گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ایران.
۵- دانشیار، بخش رادیوایزوتوپ، مرکز تحقیقات هسته ای، سازمان انرژی اتمی ایران، تهران، ایران.
۶- کارشناس، بخش رادیوایزوتوپ، مرکز تحقیقات هسته ای، سازمان انرژی اتمی ایران، تهران، ایران.
۷- کارشناس ارشد، بخش رادیوایزوتوپ، مرکز تحقیقات هسته ای، سازمان انرژی اتمی ایران، تهران، ایران.
۸- استاد، گروه ایمونولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس،تهران، ایران.
۹- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ایران.
۱۰- استاد، گروه پاتولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۱۱- استادیار، آزمایشگاه علوم حیوانی، انستیتو پاستور، تهران، ایران.

تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۸۴/۸/۲۲ **تاریخ پذیرش مقاله: ۸۴/۱۱/۲۹**

چکیده

مقدمه: آنتی بادی های منوکلونال نشاندارشده با مواد رادیواکتیو بخصوص با تکنسیوم (^{99m}Tc) کاربرد وسیعی برای مطالعات تصویربرداری در پزشکی هسته ای پیدا کرده اند. آنتی بادی PR81 یک آنتی بادی منوکلونال موشی ضد ماک وان (anti-MUC1) بر علیه آدنوکارسینومای پستان انسان است. در این تحقیق پس از ارایه یک روش ساده، سریع و موثر برای نشاندارسازی PR81 با تکنسیوم به روش مستقیم و کنترل کیفی آن، به مطالعات رادیوایمونوسینتی گرافی روی مدل موشی دارای تومور پستان پیوندی پرداخته شده است.

مواد و روشها: آنتی بادی PR81 با استفاده از ۲-مرکاپتواتانل احیاء و سپس با تکنسیوم با استفاده از متیلن دی فسفونات (MDP) بعنوان ترانس شلاتور نشاندار گردید. بازده نشاندارسازی با روش کروماتوگرافی لایه نازک آماده (ITLC) و میزان رادیوکلوئیدها از طریق الکتروفورز نیترات سلولز اندازه گیری گردیدند. پایداری برون تنی فرآورده نشاندارشده در سرم انسانی توسط روش کروماتوگرافی غربالی تعیین گردید. آزمایش یکنواختی (integrity) آنتی بادی نشاندارشده از طریق الکتروفورز پلی آکریلامید در حضور سدیم دودسیل سولفات (SDS-PAGE) انجام گردید.توانایی اتصال آنتی بادی PR81 نشاندارشده با سلول های MCF-7 با استفاده از روش اتصال سلولی (cell-binding assay) تعیین گردید. نحوه توزیع حیاتی فرآورده تولید شده در موش های BALB/c ۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق بررسی گردید. تصویربرداری از تومور در موش های BALB/c دارای تومور پستان ۲۴ ساعت پس از تزریق انجام شد.

نتایج: بازده نشاندارسازی ۲/۳ ± ۹۴/۲٪ و میزان رادیوکلوئیدها ۱/۷ ± ۲/۵٪ بود. پایداری برون تنی فرآورده نشاندارشده در سرم تازه انسانی ۵/۷ ± ۷۰٪ پس از ۲۴ ساعت بود. بررسی یکنواختی آنتی بادی نشاندارشده مشخص کرد که هیچگونه قطعه قطعه شدنی در اثر عملیات نشاندارسازی در آنتی بادی رخ نداده است. نتایج مطالعات اتصال سلولی نشان داد که آنتی بادی PR81 نشاندار شده قادر است برای اتصال به آنتی ژن های سطحی سلول های سرطانی MCF-7 با آنتی بادی نشاندارنشده PR81 رقابت نماید. مطالعه توزیع حیاتی فرآورده تولید شده در موش های BALB/c نشان داد که تجمع خاصی در بافت های حیاتی وجود ندارد. تصویربرداری از موش های BALB/c دارای تومور پستان نشان دهنده تجمع فرآورده در تومور بود.

بحث و نتیجه گیری: در این تحقیق ما توانستیم با استفاده از روش شوارتز (با کمی تغییرات) به بازده بیش از ۹۰٪ در نشاندارسازی آنتی بادی PR81 با ^{99m}Tc و با پایداری بالا در سرم خون انسان دست پیدا کنیم. نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نشان می دهند که می توان فرآورده جدید را بعنوان یک کاندیدای امیدوارکننده جهت تصویربرداری از سرطان پستان انسان در پزشکی هسته ای در نظر گرفت که بدین منظور نیاز به مطالعات تکمیلی بیشتری وجود دارد. (مجله فیزیک پزشکی ایران، دوره ۲، شماره ۸، پاییز ۸۴ : ۵۲-۴۵)

واژگان کلیدی: رادیوایمونوسینتی گرافی، تومور پیوندی پستان، نشاندارسازی با تکنسیوم، آنتی بادی منوکلونال

* **نویسنده مسؤول: حسین رجبی**
آدرس: گروه فیزیک پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران،
hrajabi@modares.ac.ir
تلفن: ۸۸۰۱۱۰۰۱- (۰۲۱) ۹۸+

Archive of SID
www.SID.ir

۱- مقدمه

رادیوایمونوسینتی گرافی یک روش جدید در تشخیص سرطان در پزشکی هسته ای می باشد. در این روش از اختصاصی بودن آنتی بادی تهیه شده بر علیه آنتی ژن های سطحی تومور مورد نظر برای هدف گیری فعال سلولهای سرطانی و نشاندار سازی آنتی بادی با یک رادیوایزوتوپ مناسب به منظور تصویربرداری استفاده می شود [۱]. آنتی ژن موسین اپی تلیال انسانی (MUC1) بشدت در آدنوکارسینوماها شامل ۸۰٪ از انواع سرطان های پستان انسان بیان می شود [۲]. اخیرا یک آنتی بادی منوکلونال ضد MUC1 جدید بنام PR81 علیه آدنوکارسینومای پستان انسانی تولید و معرفی شده است [۳]. این آنتی بادی بدلیل داشتن واکنش اختصاصی بالا با سلولهای سرطانی پستان انسان جهت اهداف تشخیصی و درمانی سرطان پستان مناسب می باشد. نشاندارسازی آنتی بادی به روش مستقیم پس از احیاء با تکنسیوم در حضور متیلن دی فسفانات بعنوان ترانس شلاتور اولین بار توسط شوارتز[٤] و ماتر[٥] معرفی و بعنوان یک روش مناسب برای بدست آوردن بازده نشاندارسازی بالا و پایدار تأیید شده است [۸-٦]. در این تحقیق ما با استفاده از متیلن دی فسفانات به یک روش موثر، سریع و ساده جهت نشاندارسازی آنتی بادی PR81 به روش مستقیم نایل شدیم. پس از کنترل کیفی فرآورده جدید، مطالعات رادیوایمونوسینتی گرافی در موش های BALB/c ماده مبتلا به تومور پیوندی پستان انجام شد.

۲- مواد و روشها

آنتی بادی مونوکلونال PR81 در گروه بیوتکنولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهیه و در ویال های یک میلی لیتری بافر فسفات سالین با غلظت ۵ میلی گرم در میلی لیتر در اختیار ما گذاشته شد.

سلول های بنیادی MCF-7 ، از سلول های آدنوکارسینومای پستان انسان و بیان کننده آنتی ژن MUC1 از بانک سلولی انستیتو پاستور تهران خریداری شد. این سلول ها در محیط کشت RPMI 1640 همراه با ۱۰٪ FCS، ال-گلوتامین ۲ میلی مولار رشد داده شدند. کلیه موادشیمیایی مورد نیاز نیز از شرکت سیگما خریداری گردید.

۲-۱- پیوند بافت سرطانی

بافت توموری پستان جهت پیوند به موش های BALB/c ماده سالم همخون از یک تومور پستان خود به خود ایجاد شده در یک موش BALB/c ماده همخون با عمر ۲۰ هفته بدست آمد. بیان آنتی ژن MUC1 در سلولهای سرطانی بافت بدست آمده با روش ایمونوهیستوشیمی با استفاده از آنتی بادی خرگوشی ضد موشی متصل به پراکسیداز تأیید شد [۹]. موشهای BALB/c ماده سالم در زمان پیوند بافت توموری ۱۰-۸ هفته سن داشتند.تومور پستان از طریق کاشت زیر جلدی قطعاتی از تومور پستان به اندازه تقریبی ۳×۳×۳ میلیمتر در ناحیه چپ شکم موشها ایجاد شد. مطالعات تصویربرداری بر روی این موشها هنگامی انجام شد که حجم تومورها تقریبا به ۱-۵/. سانتی متر مکعب رسیده بود.

۲-۲- نشاندار سازی

آنتی بادی منوکلونال در بافر فسفات سالین (PBS) با pH ۷/٤ با استفاده از ۲- مرکاپتواتانل با نسبت های مولی از ۱۰۰۰:۱ تا ۲۵۰۰:۱ (آنتی بادی: ۲- مرکاپتواتانل) در درجه حرارت اتاق بمدت ۳۰ دقیقه احیا گردید. سپس آنتی بادی احیا شده بر روی ستون سفادکس G-50 با اندازه ۱۰× ۱ سانتی متر با بافر فسفات سالین خالص سازی گردید.یک کیت استخوانی متیلن دی فسفانات با ۵ میلی لیتر سالین ۹/.٪ آماده شد. سپس به منظور بدست آوردن بهترین نسبت اختلاط متیلن دی فسفانات با آنتی بادی PR81 جهت نیل به بالاترین

Archive of SID

www.SID.ir

بازده نشاندارسازی مقادیر۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول متیلن دی فسفانات به ازاء هر میلی گرم از آنتی بادی احیاء شده به محلول آنتی بادی در غلظت های ۵۰ تا ۲۵۰ میکرو گرم در میلی لیتر افزوده شد.سپس تکنسیوم (۲۰ میکروکوری به ازاء هر میکروگرم آنتی بادی) به مخلوط نهایی اضافه شد.

۲-۳- کنترل کیفی

بازده نشاندار سازی با روش کروماتوگرافی لایه نازک آماده روی کاغذ واتمن 3MM بعنوان فاز ساکن و سالین بعنوان فازمتحرک انجام شد. میزان رادیوکلوئیدها با الکتروفورز نیترات سلولز (Gel electrophoresis apparatus, GNA-100, Pharmacia) تعیین شد [۱۰].

۲-۴- پایداری

جهت ارزیابی پایداری فرآورده تولید شده (^{99m}Tc-PR81) در بافر فسفات سالین و سرم تازه انسانی پس از ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد از ستون کروماتوگرافی غربالی (Superose 12 HR 10/30) بعنوان فاز ساکن و بافر فسفات ۰/۰۱ مولار با pH ۷ بعنوان فاز متحرک استفاده شد.

۲-۵- توانایی اتصال سلولی

سلولهای MCF-7 در یک پلیت ۹٦ چاهکی (Orange, Scientific, USA) استریل کشت داده شدند (۳×۱۰^{٤} سلول در هر چاهک) تا بصورت تک لایه در کف هر چاهک رشد نمایند و به حالت توقف رشدبرسند [۱۱]. این سلولها توسط متانل سرد در دمای $-۲۰^{\circ}C$ بمدت ۱۰ دقیقه ثابت شدند.به هر چاهک مقدارثابت ۱۵ کیلو بکرل از ^{99m}Tc-PR81 و از غلظت صفر تا ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر از PR81 سرد اضافه گردید. پس از گذشت ۳ ساعت در دمای اتاق، مقدار ماده رادیواکتیو متصل شده به سلولها با استفاده از یک شمارشگر اشعه گاما (EG & G, ORTEC, Model 4001M, USA) شمارش شد.

۲-۶- یکنواختی

یکنواختی نمونه نشاندار شده با استفاده از الکتروفورز پلی آکریلامید در حضور سدیم دودسیل سولفات با استفاده از دستگاه الکتروفورز مینی ژل (Phast System, Pharmacia, Sweden) تعیین گردید.

۲-۷- توزیع حیاتی

نحوه توزیع حیاتی درون تنی ^{99m}Tc-PR81 در ۲ گروه ۵ تایی از موشهای BALB/c سالم با وزن ۲۵-۲۰ گرم در دو زمان جداگانه ٤ و ٢٤ ساعت پس از تزریق انجام شد. به هر موش مقدار ۳۰ میکروگرم آنتی بادی معادل با ۱۵۰ میکروکوری اکتیویته از طریق ورید دم تزریق شد.در زمانهای ٤ و ٢٤ ساعت پس از تزریق موشهای مربوط به هر یک از بازه های زمانی کشته شده و بافتهای حیاتی جدا و توزین گردیدند و سپس مقدار اکتیویته موجود در هر یک از بافت ها با شمارشگر اشعه گاما شمارش شد.سپس اکتیویته موجود در هر بافت بصورت متوسط درصد دوز تزریق شده در هر گرم از بافت (% ID/g) بیان شد.

۲-۸- رادیوایمونوسینتی گرافی

٤ و ٢٤ ساعت پس از تزریق فرآورده به ورید دمی ۵ موش BALB/c دارای بافت پیوندی تومور پستان، تصویر برداری تمام بدن به صورت قدامی و خلفی، پس از بیهوش کردن حیوان، انجام شد. تصویر برداری با استفاده از یک دوربین گامای دوسر، با میدان دید حداکثر و کولیماتور

Archive of SID
www.SID.ir

سوراخ موازی، با قدرت تفکیک بالا و کم انرژی انجام گرفت. تصاویر برای مدت زمان ۱۵ دقیقه برای هر نما و جمع آوری تقریبا ۱۰۰۰۰۰ شمارش برای کل بدن ثبت شدند. تصاویر با پهنای پنجره ۲۰٪ و فتوپیک ۱٤۰ کیلوالکترون ولت برداشته شدند.

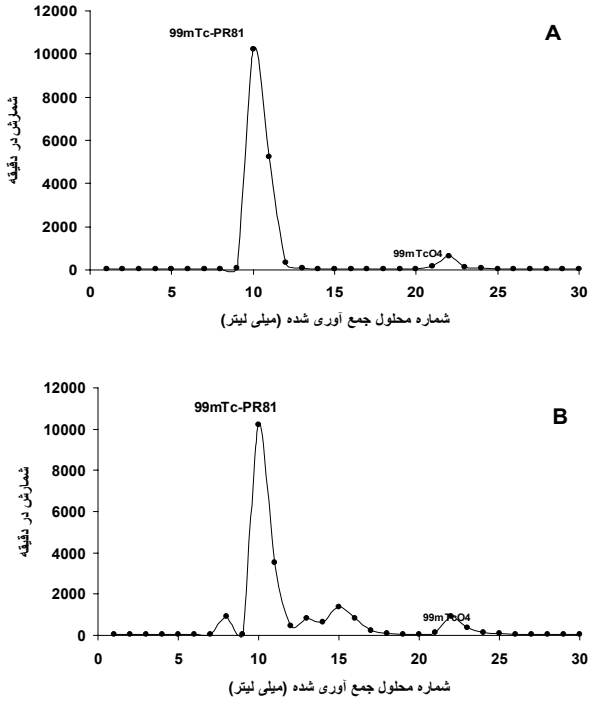
۳- نتایج

۳-۱- نشاندارسازی

کروماتوگرافی کاغذی نشان داد که نسبت مولی ۱:۲۰۰۰ (آنتی بادی:۲- مرکاپتواتانل) و ۲۰ میکرولیتر از محلول متیلن دی فسفونات به ازای هر میلی گرم از آنتی بادی احیاء شده، جهت رسیدن به بازده نشاندارسازی ۲/۳± ۹٤٪ مناسب هستند. نتایج نشان داد که غلظت ۱۵۰ میکروگرم در میلی لیتر آنتی بادی و بالاتر برای رسیدن به بازده نشاندارسازی بیش از ۹۰٪ نیاز است. نتایج الکتروفورز نیترات سلولز نشان داد که میزان رادیوکلوئیدها ۱/۷± ۲/۵٪ از کل رادیواکتیویته بود.

۳-۲- پایداری

نتایج کروماتوگرافی غربالی نشان داد که بیش از ۷۰٪ کل رادیواکتیویته به یک قله همگن با یک زمان بازداری مشابه با آنتی بادی نشاندار نشده مربوط است. این نتایج پایداری آنتی بادی نشاندار شده در بافر و سرم خون انسان و در نتیجه مطلوب بودن فرآورده تولید شده جهت مطالعات تشخیصی درون تنی را نشان می دهد (شکل۱).

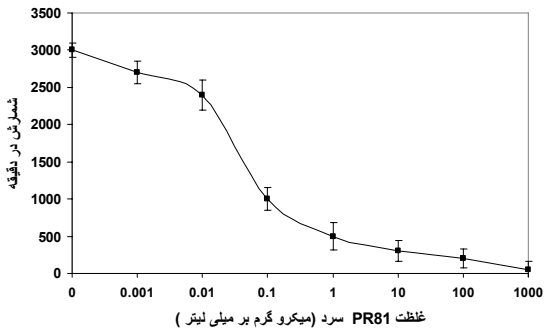


شکل۱- نمودارراديوکروماتوگرافی غربالی از فرآورده ^{99m}Tc-PR81 با دستگاه FPLC در بافر (A) و سرم خون انسان (B) ۲٤ ساعت پس از نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد

۳-۳- توانایی اتصال سلولی

توانایی اتصال ^{99m}Tc-PR81 با سلولهای بیان کننده آنتی ژن ماک وان باآزمایش اتصال سلولی تعیین گردید. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می شود میزان چسبیدن آنتی بادی نشاندار شده به سطح سلولهای MCF 7 با افزایش غلظت آنتی بادی سرد کاهش می یابد. توانایی این فرآورده برای رقابت با آنتی بادی سرد برای چسبیدن به رسپتورهای سلولی نشان دهنده عدم کاهش ایمونوراکتیویته آنتی بادی در اثر عملیات نشاندارسازی است.

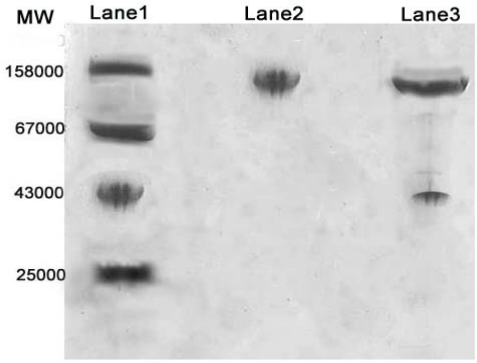
Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۲- آزمایش اتصال سلولی با سلولهای MCF 7 (منبع ماک وان انسانی) ثابت شده با متانل بعنوان فاز جامد و ^{99m}Tc-PR81 بعنوان لیگاند ردیاب. توانایی جانشینی رقابتی اتصال آنتی بادی نشاندار شده با سلولهای MCF 7 در حضور آنتی بادی سرد با غلظت های ۱۰۰۰-۰ میکروگرم در میلی لیتر اندازه گیری شده است.

۳-۴- یکنواختی

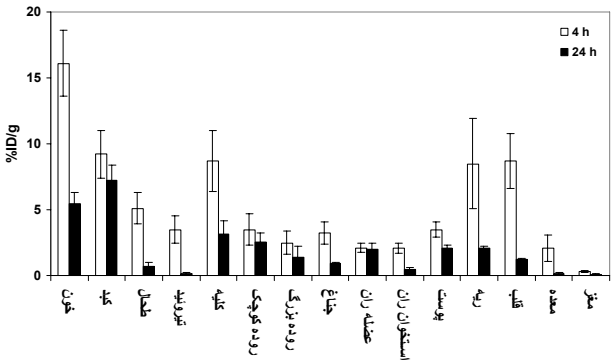
نتایج الکتروفورز پلی آکریلامید نشان داد که مراحل مختلف نشاندارسازی منجر به شکستگی قابل ملاحظه ای در ساختمان آنتی بادی نشده است (شکل۳).



شکل۳- الکتروفورز پلی آکریلامید در حضور سدیم دودسیل سولفات از فرآورده ^{99m}Tc-PR81 با رنگ آمیزی کوماسی آبی. ستون اول: استانداردهای وزن مولکولی (MW)، ستون دوم: آنتی بادی PR81 دست نخورده، ستون سوم: فرآورده ^{99m}Tc-PR81

۳-۵- توزیع حیاتی

شکل ٤ نتایج حاصل از توزیع حیاتی ^{99m}Tc-PR81 را در موشهای BALB/c سالم در ٤ و ٢٤ ساعت پس از تزریق وریدی بر حسب متوسط درصد دوز تزریق شده در هر گرم از بافت نشان می دهد. این نتایج نشان می دهدکه هیچگونه تجمع غیر طبیعی فرآورده تولیدی در بافت های حیاتی دیده نمی شود.



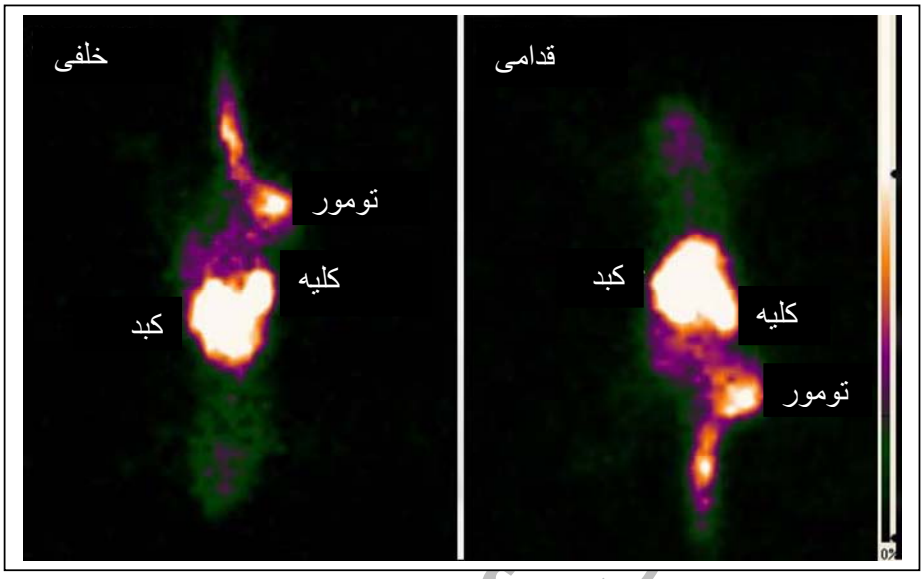
شکل ٤- توزیع حیاتی ^{99m}Tc-PR81 در موشهای بالب سی سالم انجام شده در ٤ و ٢٤ ساعت پس از تزریق و بیان شده بر حسب متوسط درصد دوز تزریق شده در هر گرم از بافت (%ID/g).

۳-۶- رادیوایمونوسینتی گرافی

نتایج سینتی گرافی از موش های ماده BALB/c مبتلا به تومور پستان پیوندی نشان داد که محصول تولید شده ٢٤ ساعت پس از تزریق با حساسیت بالایی در تومورها تجمع یافته است. میزان شمارش تومور به زمینه ۲/۷۳±۰/۲۲ بود. شکل ۵ یک نمونه از تصاویر سینتی گرافی قدامی و خلفی کل بدن از یک موش BALB/c مبتلا به تومور پستان پیوندی است که بخوبی تجمع فرآورده جدید در تومور را نشان می دهد.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ٥- تصاویر سینتی گرافی قدامی و خلفی کل بدن از یک موش ماده بالب سی مبتلا به تومور پستان پیوندی در ناحیه چپ شکم که ٢٤ ساعت پس از تزریق وریدی فرآورده جدید برداشته شده است.

٤- بحث

آنتی بادی های مونوکلونال فراوانی با تحریک سیستم ایمنی موشهای BALB/c با استفاده از آنتی ژن های مختلف بر پایه توالی های تکراری اسیدهای آمینه ساخته شده اند [١٢]. با این وجود آنتی بادی های تولید شده بر علیه قسمت تکراری آنتی ژن ماک وان همیشه با ماک وان طبیعی موجود بر روی سطح سلولهای سرطانی واکنش نشان نمی دهند. این موضوع اهمیت گلیکان ها[1] را در ساختمان سه بعدی اپی تپها[2] نشان می دهد [١٣]. آنتی بادی PR81 بر علیه بافت همگن شده سرطان پستان انسان بدون هرگونه دخالت آنزیمی ساخته شده است [٣]. بنابراین ساختمان ٣ بعدی آنتی ژن بیان شده بر روی سطح سلولهای توموری دست نخورده باقی مانده است. بعلاوه قبلا مشخص شده است که آنتی بادی های با توانایی اتصالی بالا ($\times 10^{-8}$) هم برای تصویربرداری و هم برای کارهای درمانی بسیار مناسب هستند[١٤]. لذا آنتی بادی مونوکلونال PR81 که در مطالعات قبلی توانایی بالایی برای اتصال با دو پپتید ماک وان نشان داده است ($2/19\times 10^{-8}\ M^{-1}$) ممکن است برای مطالعات ردیابی و تصویربرداری از تومورها مناسب باشد. بدین منظور نشاندارسازی آن با یک رادیوایزوتوپ مناسب و سپس کنترل کیفی فرآورده تولیدی اولین قدم در استفاده از این آنتی بادی در مطالعات رادیوایمونوسینتی گرافی می باشد که در تحقیق حاضر انجام شدند.

در هر روش نشاندارسازی آنتی بادی، هدف تولید یک ردیاب با پایداری بالا به صورتی است که حداقل تاثیر روی ایمونوراکتیویته آنتی بادی گذاشته شود [١٥]. وقتی که از رادیوایزوتوپ هایی با نیمه عمر کوتاه مثل ^{99m}Tc استفاده می شود، بایستی روش نشاندارسازی بقدر کافی سریع باشد تا حداقل کاهش اکتیویته در اثر گذشت زمان رخ دهد و نیز ساده باشد تا بتواند بطور وسیعی مورداستفاده قرار گیرد [١٦].

1- Glycans
2- Epitopes

Archive of SID
www.SID.ir

روش بکار رفته در این تحقیق همه خصوصیات ذکر شده را دارد و منجر به بازده نشاندارسازی بیش از ۹۰٪ شده است که خود نیاز به مرحله خالص سازی آنتی بادی پس از نشاندارسازی را منتفی می کند. این روش خصوصا قابلیت تبدیل شدن به کیت را داراست.

در تحقیق حاضر مشخص شد که ^{99m}Tc-PR81 پایداری بالایی در سرم خون انسان داشته و توانایی بالایی جهت اتصال به سلولهای MCF 7 داراست هیچگونه تجمع قابل ملاحظه ای از فرآورده جدید در بافت های حیاتی موش های سالم BALB/c دیده نشد. حضور فرآورده درخون ۲٤ ساعت پس از تزریق و آشکارسازی تومور پستان در مدل حیوانی از نتایج امیدوارکننده ای هستند که استفاده از ^{99m}Tc-PR81 را بعنوان یک رادیوداروی جدید برای تصویربرداری از سرطان پستان انسان در پزشکی هسته ای مطرح می کند.

۵- نتیجه گیری

در این تحقیق ما توانستیم با استفاده از روش شوارتز (با کمی تغییرات) به بازده بیش از ۹۰٪ در نشاندارسازی آنتی بادی PR81 با ^{99m}Tc دست پیدا کنیم. نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نشان می دهند که پرتوداروی جدید یک کاندیدای امیدوارکننده جهت مطالعات رادیوایمونوسینتی گرافی از سرطان پستان انسان است و بدین منظور نیاز به مطالعات تکمیلی بیشتری وجود دارد.

منابع

1. Potamianos S, Varvarigou AD, Archimandritis SC. Radioimmunoscintigraphy and radioimmunotherapy in cancer: priciples and application. Anticancer Res 2000; 20: 925-948.
2. Akewanlop Ch, Watanabe M, Singh B, Walker M, Kufe DW, Hayes D. Phagocytosis of breast cancer cells mediated by anti-MUC1 monoclonal antibody, DF3, and its bispecific antibody. Cancer Res 2001; 61: 4061-4065.
3. Paknejad M, Rasaee MJ, Karami F, Kashanian S, Mohagheghi MA, Omidfar K. Production of monoclonal antibody, PR81, recognizing the tandem repeat region of MUC1 mucin. Hybridoma and Hybridomics. 2003; 22(3): 153-158.
4. Schwarz A, Steinstrasser A. A novel approach to ^{99m}Tc-labeled monoclonal antibodies. J N M 1987; 28: 721-725.
5. Johnstone A, Thorpe R. Immunocytochemistry, immunohistochemistry and flow cytofluorimetry. In: Immunochemistry in practice. 3th edition, Berlin, Blackwell Science 1996. p.313-338.
6. Alauddin MM, Leslie AK, Epstein AL. An improved method of direct labeling monoclonal antibodies with ^{99m}Tc. Nucl Med Biol 1992; 19: 445-454.
7. Collombetti LG, Goldman J, Patel GC. A rapid method for labeling IgG with ^{99m}Tc. J N M 1975; 20: 652.

Archive of SID

www.SID.ir

8. Paik CH, Phan LN, Hong JJ. The labeling of high affinity sites of antibodies with ^{99m}Tc. Nucl Med Biol 1985; 12: 3-8.

9. Mather SJ, Ellison D. Reduction mediated technetium-99m labeling of monoclonal antibodies. J N M 1990; 31: 692-697.

10. Lee HJ, Pardridge W. Monoclonal antibody radiopharmaceuticals: cationization, pegylation, radiometal chelation, pharmacokinetics, and tumor imaging. Bioconjugate Chem 2003; 14: 546-553.

11. Price MR, Rye PD, Petrakou E. Summary report on the ISOBM TD-4 workshop: Analysis of 56 monoclonal antibodies against the MUC1 mucin. Tumor Biol 1998; 19(suppl 1): 1-20.

12. Ryuko K, Schol DJ, Snijdewint FGM. Characterization of a new MUC1 monoclonal antibody (VU-2-G7) directed to the glycosylated PDTR sequence of MUC1. Tumor Biol 2000; 21: 197-210.

13. Geoffrey AP, Wenjun L, Krauer K, Baker T, Wreschner D, Mckenzie IFC. Comparison of the biological properties of two anti-mucin-1 antibodies prepared for imaging and therapy. Cancer Immunol Immunother 1997; 44: 323-328.

14. Varvarigou AD, Archimandritis SC, Sekeri K, Sourlingas TG, Sivolapenko G, Paschali E. Radiochemical and radioimmunological data of ^{99m}Tc-anti-CEA labeled by two diverse methods. Nucl Med Commun 1996; 17: 80-88.

15. Pettit WA, Denal F, Bennet J. Improved protein labeling by stannous tartrate reduction of pertechnetate. J N M 1980; 21: 59-62.

16. Rhodes BA, Torvestad DA, Breslow K. ^{99m}Tc labeling and acceptance testing of radiolabeled antibodies and antibody fragments. In: Burcheil SW, Rhodes BA, editors. Tumor Imaging. New York: Mason; 1982.p.111-114.

Archive of SID

www.SID.ir