

**TOKES 17.10.2023**

**Tieteellisiin tai opetustarkoituksiin käytettävien eläinten suojelun neuvottelukunta (TOKES)**

**SUOSITUS: Vasta-aineita käyttävän tulisi tietää, miten vasta-aineet on tuotettu ja suosia ei-eläinperäisiä vasta-aineita**

TOKES edistää [3R-periaatteen](#) (eläinten käytön korvaaminen (replacement), vähentäminen (reduction) ja parantaminen (refinement) toteutumista koe-eläinten käytössä [EU-direktiivin 2010/63/EU](#) mukaisesti. Neuvottelukunta tekee ehdotuksia ja antaa lausuntoja 3R-periaatteen edistämiseksi. Neuvottelukunta antaa lausuntoja myös muista merkittävistä koe-eläinten käyttöä ja hyvinvointia koskevista toimista ja esityksistä.

EU:n Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing ([EURL ECVAM](#)) julkaisi 14.5.2020 suosituksen, jonka mukaan eläimiä ei tulisi enää käyttää vasta-aineiden kehittämiseen tai tuottamiseen tutkimusta, sääntelyä, diagnostiikkaa eikä sairauden hoitoa varten. EU-maiden ei tulisi enää sallia eläinten immunisointia vasta-aineiden kehittämiseksi ja tuottamiseksi, jos tälle ei ole vankka tieteellinen peruste.

EURL ECVAM:in lausuntoon perustuen TOKES antaa seuraavat suositukset

1. Jokaisen vasta-aineita käyttävän pitäisi olla tietoinen, ovatko hänen käyttämänsä vasta-aineet eläinperäisiä vai eivät.
2. Jos vasta-aineet ovat eläinperäisiä, käyttäjän pitäisi ottaa selvää, onko niitä mahdollista korvata ei-eläinperäisillä.
3. Ei-eläinperäisten vasta-aineiden kirjastojen laajentamista ja saavutettavuutta pitäisi edistää järjestelmällisesti.
4. Uusien ei-eläinperäisten vasta-aineiden kehittämiseen pitäisi aktiivisesti panostaa ja turvata riittävä rahoitus. Kaupallisten toimijoiden tulisi ottaa näitä tuotantoon. Käyttäjien tulisi vasta-aineita tilatessaan kysyä näiden tuottamismahdollisuutta ei-eläinperäisesti.
5. Tutkimusrahoittajien tulisi edistää ei-eläinperäisten vasta-aineiden käyttämistä rahoittamissaan hankkeissa kiinnittämällä hakijoiden huomiota tavoitteeseen.
6. Tieteellisten julkaisusarjojen toimittajien ja kustantajien tulisi kiinnittää huomiota julkaistavaksi lähetetyissä käsikirjoituksissa mainittujen vasta-aineiden alkuperään.

**TOKESin perustelut suosituksiin**

Vasta-aineita käytetään laajalti tutkimuksessa, diagnostiikassa ja potilaiden hoidossa. Siirtyminen eläinperäisistä vasta-aineista muulla tavoin tuotettujen vasta-aineiden

käyttöön edistää korvaamisen ja vähentämisen periaatteita, ja on siten lainsäädännön keskeinen tavoite.

Eläinperäisten vasta-aineiden tekeminen Suomessa on vähäistä. Vasta-aineet hankitaan pääasiassa kaupallisilta tuottajilta, joista suuri osa toimii muualla kuin Suomessa. Vasta-aineiden käyttäjien tulisi selvittää, ovatko heidän käyttämänsä vasta-aineet eläinperäisiä vai muulla tavalla tuotettuja, ja mahdollisuuksien mukaan tulisi siirtyä käyttämään ei-eläinperäisiä vasta-aineita.

Toistaiseksi eläimissä tehdyt vasta-aineet ovat välttämättömiä, koska kaikkia ei vielä voi korvata ei-eläinperäisillä. Verrattuna eläinperäisten vasta-aineiden tuotantoon, ei-eläinperäisten vasta-aineiden tuotanto on uudempaa, nopeasti kehittyvää teknologiaa. Niiden käytön odotetaan laajenevan vähitellen vähentäen siten eläinten käytön tarvetta. Vasta-aineiden käyttäjien tulee olla tietoisia tavoitteesta vähentää eläinten käyttöä vasta-aineiden tuotannossa ja valita eläinkokeeton vaihtoehto aina kun se käytännössä on mahdollista.

Jos eläinperäisiä vasta-aineita on tarpeen tuottaa, tulee kaikin tavoin edistää käytettävien eläinten hyvinvointia. Hankelupalautakunta varmistaa eläinkoelupia käsitellessään, että eläinten käyttö on perusteltua vasta-aineiden tuottamisessa ja tämä tehdään eläinten kannalta parhaalla mahdollisella tavalla.

## **Taustaa**

Suositus on herättänyt laajalti keskustelua siitä, onko eläinperäisistä vasta-aineista luopuminen vielä mahdollista, katso esimerkiksi eurooppalaisten tutkimusyhteisön ja lääketieteellisuuden ([LERU](#), [EARA/EFPIA](#)) kriittiset kannanotot. Eläinperäisillä vasta-aineilla on todettu olevan suuri merkitys kliinisessä käytössä, koska ei-eläinperäisiä vasta-aineita ei vielä ole juurikaan käytettävänä.

TOKES järjesti 21.10.2021 webinaarin, jossa keskusteltiin vasta-aineiden tuotannon ja käytön nykytilanteesta Suomessa. Esityksistä kävi ilmi vasta-aineiden laaja käyttö tutkimuksessa, diagnostiikassa ja kliinisessä työssä. Vasta-aineiden vaihtaminen vaatii validoinnin laadun varmistamiseksi, mikä on työläs ja aikaa vievä prosessi johtuen käytettävien vasta-aineiden suuresta määrästä. Vasta-aineet hankitaan kaupallisilta tuottajilta, ja saatavana on vaihtelevasti sekä eläimillä että muilla tavoin tuotettuja vasta-aineita. Vasta-aineiden käyttäjien tulisi tuntea EU:n tavoite siirtyä ei-eläinperäisiin vasta-aineisiin ja ottaa tämä huomioon vasta-aineita hankkiessaan. Suomessa käyttäjien itsensä eläimissä tuottamat vasta-aineet ovat harvinaisia.

## **Mitä vasta-aineet ovat**

Vasta-aine on proteiini, joka syntyy vasteena altistumiselle vieraille proteiinille (antigeenille), esimerkiksi infektioissa jollekin mikrobin osalle. Vasta-aine sitoutuu

antigeeniin erittäin spesifillä tavalla ja näin "merkitsee" sen, minkä jälkeen immuunisolut infektiotilanteessa tunnistavat ja eliminoivat vieraat tunkeutujat.

### **Mihin vasta-aineita käytetään ja mistä niitä hankitaan**

Vasta-aineilla on korkea spesifiys ja sitoutumisvoima, minkä takia ne ovat ihanteellisia työvälaineita tutkimuksessa, diagnostiikassa sekä terapeuttisina lääkkeinä. Lukuisat tutkimusmenetelmät (kuten immunohistokemialliset värjäykset ja immuunisaostus) perustuvat vasta-aineiden käyttöön. Sairauksien tunnistamisessa ja hoidon valinnassa ovat vasta-aineet usein ratkaisevassa asemassa; esimerkiksi niin sanottujen tulehdusarvojen analyysi perustuu vasta-aineiden käyttöön. Viime vuosikymmenten aikana vasta-aineet ovat osoittautuneet käänteentekeviksi myös monien henkeä uhkaavien sairauksien hoidossa, esimerkkinä immunoterapia useiden kasvaintautien kohdalla.

### **Kuinka vasta-aineita tuotetaan: vasta-aineet voivat olla eläinperäisiä tai muilla tekniikoilla tuotettuja**

#### **Eläinperäiset vasta-aineet**

Polyklonaalisten vasta-aineiden tuottamiseksi jollekin proteiinille eläin immunisoidaan eli eläimeen injisoidaan kyseistä antigeeniä, tyypillisesti kolme annosta tietyin väliajoin. Antigeeni sitoutuu immuunijärjestelmän B-lymfosyyttisoluuun, joka erilaistuu plasmasoluksi ja alkaa tuottaa antigeenille vasta-ainetta. Prosessiin osallistuu tyypillisesti monia B-soluja, jotka sitoutuvat antigeenin eri osiin eli epitooppeihin. Näin immuunivaste sisältää useista eri B-soluista kehittyneitä klooneja, ja vasta-ainetuotanto on siis polyklonaalista.

Immunisoidun eläimen seerumi sisältää spesifiydeltään erilaisia käytetyn antigeenin tunnistavia vasta-aineita. Seerumia voi käyttää sellaisenaan, mutta yleensä halutut vasta-aineet puhdistetaan seerumista erilleen. Polyklonaalisia vasta-aineita tuotetaan useissa eri eläinlajeissa, lukumääräisesti eniten kaniineissa.

Monoklonaalisten vasta-aineiden kehittämiseksi eläin (tavallisesti hiiri) immunisoidaan samalla tavoin kuin yllä, jolloin se kehittää antigeenille polyklonaalisia vasta-aineita. Monoklonaalisten, yhdelle epitoopille spesifien vasta-aineiden tuottaminen tapahtuu yhdistämällä (fuusioimalla) immunisoidun eläimen pernasolut jatkuvasti kasvavien myeloomasolujen kanssa. Fuusiosoluista tehdään sitten yksisoluviljelmiä, joista valitaan ne kloonit, jotka tuottavat haluttua monoklonaalista vasta-ainetta. Tyypillisesti jatkoselvittelyyn ja käyttöön jää useita spesifiydeltään erilaisia soluklooneja, joilla vasta-aineiden varsinainen tuotanto tapahtuu. –Tieteellisessä tutkimuksessa voidaan myös sekoittaa näitä samalle antigeenille luotuja monoklonaalisia vasta-aineita – käyttää siis polyklonaalista vasta-ainepakettia.

Eläinten hyvinvointia immunisointikäsittelyn aikana lisätään totuttelulla toimenpiteisiin, ihmisiin ja käsittelyyn. Sosiaalisten eläinten ylläpitäminen ryhmissä on tärkeää, ja kaniineille tulee tarjota liikkumatilaa esim. lattiakarsinoissa. Immunisointi tulee toteuttaa menetelmällä, josta on vähiten haittaa eläimen hyvinvoinnille.

Adjuvantiksi tulisi valita eläimelle mahdollisimman vähän haittaa aiheuttava valmiste. Yleisesti käytetty Freund's complete adjuvant (FCA) aikaansaa pitkävaikutteisen immuunivasteen, mutta voi aiheuttaa haitallisia ja vakavia reaktioita. FCA:ta pitäisi käyttää vain ensimmäisellä immunisaatiokerralla. Antigeenin on oltava puhdasta, koska epäpuhtaudet voivat toimia immunogeenisinä ja haitata halutun vasta-aineen muodostusta sekä lisätä tulehdus- ja ärsytyriskiä.

Nahan alle tapahtuva annostelu on suositelluin antoreitti. Annostilavuuden on oltava mahdollisimman pieni, ja annostelussa annos jaetaan tarvittaessa useampaan kohtaan. Antokertoja tulisi olla mahdollisimman vähän ja kolmen lisäantokerran ylittämiseen on oltava hyvin perustellut syyt. Kipua on lievitettävä tarvittaessa. Mahdollisten väliverinäytteiden ottotiheydessä ja näytekoossa noudatetaan yleisiä lajikohtaisia suosituksia ja lopullinen veren keräys tehdään terminaalianestesiassa.

### **Ei-eläinperäiset vasta-aineet**

Ei-eläinperäisten monoklonaalisten vasta-aineiden tuotanto perustuu ihmisen B-lymfosyyteistä tehtyihin tai synteettisiin vasta-ainekirjastoihin. Vasta-aineen *in vitro* -affiniteettiselektio tehdään useimmiten faaginäyttötekniikalla (phage display). Siinä kirjastojen vasta-aineita ilmennetään säikeisten bakteriofaagien pinnalla. Faaginäyttökirjastoa seulotaan tyypillisesti useita kierroksia ja niiden myötä jäljelle jää faageja, joiden ilmentämät vasta-aineet omaavat hyvän affiniteetin antigeeniä kohtaan. Myöhemmin on kehitetty muun muassa nisäkässolu-näyttötekniikka (mammalian cell display), jossa vasta-ainefragmentteja ilmennetään ihmissolulinjojen solujen pinnalla. Menetelmän etuna on muun muassa se, että nisäkässoluissa oikein laskostuneiden ja täysipitkien proteiinien glykosylaatio ja muut translaation jälkeiset muokkaukset vastaavat ihmissoluissa tapahtuvia muokkauksia.

Ei-eläinperäisillä menetelmillä tehtyjen vasta-aineiden toimivuus riippuu pitkälti käytetyn vasta-ainekirjaston laadusta. Nykyisillä tekniikoilla tuotetut ei-eläinperäiset vasta-aineet ovat sitoutumisessaan useimmiten spesifejä, ja tuotantoerien välinen vaihtelu on vähäistä. Eläinperäisille vasta-aineille on useimmiten ominaista hyvä sitoutumisvoima, liukoisuus, spesifiys ja stabiilius sekä hyvät farmakokineettiset ominaisuudet, koska immuunivaste valikoi vasta-aineita, jotka sopivat *in vivo* -käyttöön. Vastaavasti voidaan ei-eläinperäisten vasta-aineiden ominaisuuksia tarvittaessa muokata molekyylibiologisin keinoin samaan suuntaan, ja muun muassa nisäkässolu-näyttötekniikan kehittyessä voidaan odottaa yhä toimivampia ei-eläinperäisiä vasta-aineita. Riippumatta valmistusmenetelmästä uudet vasta-aineet on karakterisoitava kattavasti, sillä kaikilla menetelmillä hyvien vasta-aineiden lisäksi

lopputuloksena saadaan toisinaan myös huonoja vasta-aineita, joilla on esimerkiksi heikko spesifisyys.

## **Yhteenveto**

Tieteellinen tutkimus ja kliininen lääketiede edellyttävät vielä tällä hetkellä eläinperäisten vasta-aineiden käyttöä tilanteissa, joissa korvaavia synteettisiä vaihtoehtoja ei ole. Tiedeyhteisöjen, tiedejulkaisujen, kaupallisten toimijoiden, tutkimusrahoittajien ja yhteiskunnan pitäisi kaikkien osaltaan vaikuttaa ei-eläinperäisten vasta-aineiden kehittämiseen ja käytön lisäämiseen. Vuoden 2023 aikana on tulossa tietokanta ei-eläinperäisistä vasta-aineista (Animal-free Research UK).