

ชื่อโครงการวิจัย การผลิตแอนติธอมโบไซต์ แอนติบอดี เพื่อใช้ในการตรวจสอบ
 แอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดด้วยเทคนิค SPRCA

ผู้ทำการวิจัย นางปริญานาด วงศ์จันทร์

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก
 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การวิเคราะห์แอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดสามารถทำได้หลายวิธี แต่มีข้อจำกัดแตกต่างกันไป วิธี Solid phase red cell adherence assay (SPRCA) เป็นวิธีหนึ่งที่ทำได้ง่าย ไม่ต้องการอุปกรณ์หรือน้ำยาพิเศษใดๆ แต่ในขั้นตอนของเทคนิคจำเป็นต้องใช้ anti-thrombocyte สำหรับตรึงเกล็ดเลือดไว้บนหลุม ผู้วิจัยจึงได้ผลิต anti-thrombocyte ขึ้นใช้เองในห้องปฏิบัติการทั้งด้านการเรียนการสอน การบริการทางห้องปฏิบัติการ และเพื่อการจำหน่ายในราคาถูกและลดต้นทุน ลดการนำเข้า โดยการฉีดกระตุ้นกระต่ายสายพันธุ์ New Zealand White จำนวน 2 ตัวด้วยเกล็ดเลือดเข้มข้นจากผู้บริจาคสุขภาพแข็งแรงหมู่โลหิตโอ ในขนาด 1×10^8 cells/500 μ l/dose ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 4 เดือน เจาะเลือดปั่นแยกเก็บซีรัมก่อนการฉีดกระตุ้นทุกครั้ง ตรวจสอบแอนติบอดีในซีรัมกระต่ายด้วยเทคนิค platelet suspension immunofluorescent (PSIFT) โดยใช้ FITC conjugated swine anti-rabbit Igs ที่เจือจาง 1:25 จากการศึกษากระต่ายสร้าง anti-thrombocyte ในระดับความแรงที่สูงขึ้นเมื่อฉีดกระตุ้นเป็นเวลานานขึ้นและพบว่าความแรงของแอนติบอดีเริ่มคงที่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 12 จนถึงสัปดาห์ที่ 20 โดยมีไตเตอร์เท่ากับ 40 อย่างไรก็ตามแม้ว่าแอนติบอดีที่ผลิตได้มีความแรงของต่ำ แต่สามารถปรับให้สูงขึ้นได้โดยการทำให้บริสุทธิ์และทำให้เข้มข้นขึ้นตามต้องการก่อนนำไปใช้งานตรวจวิเคราะห์ต่อไป

Abstract

TE 162320

ชื่อโครงการวิจัย การผลิตแอนติธรอมโบไซท์ แอนติบอดี เพื่อใช้ในการตรวจสอบ
 แอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดด้วยเทคนิค SPRCA
ผู้ทำการวิจัย นางปริญานาถ วงศ์จันทร์
หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก
 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Many assays are used to detect anti-platelet alloantibodies in patient sera with abnormal bleeding according to platelet destruction. However, each has its own limitation. Solid phase red cell adherence assay (SPRCA) is colorimetric method and no special materials needed but anti-thrombocyte antibodies to immobilize platelet onto microtiter plate. Our aim is to produce rabbit polyclonal antibodies specific to human platelet to use as a key material in the development of SPRCA as a special laboratory service. This project is not only used as a model for teaching but the obtained product can be supplied as demand. The most important is to reduce cost of production and out sourcing. Platelet concentrate was prepared from 5 ml EDTA blood of normal healthy subject. After adequate washing, it was adjusted to at least 1×10^8 cell/500 μ L/dose and immunized subcutaneously every week for 5 months. Blood and serum was drawn and separated, respectively. Twenty immunizations were performed and antibody detection was assayed by platelet suspension immunofluorescent technique using 1:25 FITC-conjugated swine anti-rabbit IgG.

It was found that rabbit produced anti-thrombocytes in dose response curve and the titer of was up to 40 since the week 12th. The obtained anti-thrombocyte is very low titer, however it can be increased by purification and concentration before any assay in need.