ชื่อโครงการวิจัย: การผลิตแอนติบอดีจำเพาะจากไข่แดงของแม่ไก่ที่ฉีดกระตุ้นด้วยวัคซีน ดี เอ็น เอ
ผู้วิจัย: รศ. ดร. วัชระ กสิณฤกษ์
หน่วยงานที่สังกัด: ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

IgY technology เป็นเทคนิคการผลิตแอนติบอดีจำเพาะ ชนิด IgY จากไข่ของแม่ไก่ที่ฉีดด้วยแอนติเจนที่สนใจ เพื่อพัฒนา IgY technology ขึ้นในภาควิชา ผู้วิจัยได้นำซีรัมคนปกติมาแยก IgG โดยวิธี affinity chromatography โดยใช้ Protein A sepharose column ในการแยก โดยเทคนิคนี้พบว่าซีรัม 1 ml สามารถเตรียม IgG ที่บริสุทธิ์ ได้ถึง 8 mg จากนั้นนำ IgG ไปฉีดไก่จำนวน 2 ตัวทางกล้ามเนื้ออก พบว่าไก่ทั้งสองสร้าง anti-human IgG antibody ได้ในปริมาณสูงในซีรัม หลังการฉีดแอนติเจน 2-3 ครั้ง ผู้วิจัยได้แยก IgY ออกจากไข่ของแม่ไก่ดังกล่าวโดยวิธี salt precipitation และพบว่า IgY ที่แยกได้มี anti-human IgG antibody อยู่ในปริมาณสูงเช่นกัน จากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า ผู้วิจัยสามารถพัฒนา IgY technology ขึ้นในภาควิชา และพบว่า IgY technology เป็นเทคนิคหนึ่งที่ทำได้ง่ายและสามารถนำไปใช้เตรียมแอนติบอดีที่สนใจได้ในปริมาณมากในระยะเวลาสั้น

เพื่อศึกษาการผลิตแอนติบอดีจำเพาะโดยวิธี DNA immunization ผู้วิจัยได้นำ plasmid DNA ที่กำหนดการสร้าง CD147-IgG fusion protein และ HBs antigen มาใช้ในการศึกษา โดยเริ่มต้นด้วยการเตรียม plasmid DNA ทั้ง 2 ให้ได้ปริมาณมาก และพิสูจน์ว่า plasmid DNA ที่เตรียมได้สามารถกำหนดการสร้างโปรตีนจำเพาะได้ จากนั้นนำ plasmid DNA ทั้ง 2 ไปฉีดหนู Balb/c และไก่ ผลการทดลองพบว่าโดยวิธี DNA immunization นี้สามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีจำเพาะได้ในหนูทุกตัวที่ศึกษา แต่ไม่สามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีจำเพาะในไก่ทั้งในซีรัมและ IgY ที่แยกได้จากไข่ไก่ ที่เป็นเช่นนี้น่าจะเป็นเพราะ promoter ที่มีอยู่ใน plasmid vector อาจไม่เหมาะสมกับไก่

Title: Production of Specific Antibodies from Egg Yolk of Hens Immunized with DNA vaccine

Author: Assc. Prof. Dr. Watchara Kasinrerk

Institution: Department of Clinical Immunology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

IgY technology is a technique for production of IgY specific antibody isolated from eggs of the antigen-immunized hen. To develop Ig Y technology in our department, IgG were isolated from human serum by affinity chromatography using protein A sephorose column. By this method, up to 8 mg of IgG could be isolated from 1 ml of the starting serum. The isolated IgG were then immunized into 2 hens by intra pectoral muscle injection. By this immunization, high titer of anti-human IgG antibodies could be detected in sera of both hens after 2-3 immunizations. The IgY were isolated from immunized hens' eggs by salt precipitation and high titer of anti-human IgG antibodies could be detected in the isolated IgY as well. These results indicate that the IgY technology was developed. This technique is simple and can be used to produce large amount of specific antibody in a short period of time.

To study the production of specific antibody by DNA immunization, plasmid DNA encoding CD147-IgG fusion protein and encoding HBs antigen were used. Plasmid DNA encoding the proteins of interest were prepared and proved for the expression the corresponding proteins before use. Then, the produced plasmid DNA were immunized into Balb/c mice and hens. By this immunization strategy, specific antibodies could be detected in all immunized mice serum. However, this DNA immunization could not induced antibody production in immunized hens, both in sera or IgY isolated from egg yolk. This is likely that the promoter carried in the plasmid vector used in this study is not suitable for avian.