

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาวิธีการตรวจวัดปริมาณแอนติบอดีบนเม็ดเลือดแดง ด้วยวิธี enzyme-linked antiglobulin test โดยใช้เทคนิคไมโครเพลทด้วยการล้างเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ต้องการตรวจวัด และนำไปทำปฏิกิริยากับ enzyme conjugated anti-IgG เพื่อให้ anti-IgG จับกับ IgG บนเม็ดเลือดแดง จากนั้นจึงวัดปริมาณเอนไซม์ที่ไม่จับบนเม็ดเลือดแดง (unbound) โดยการดูดสารละลายส่วนในสไลด์ในสเปกโตรท วัดสีที่เกิดขึ้น ซึ่งจะเป็นสัดส่วนผกผันกับปริมาณ IgG บนเม็ดเลือดแดง จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า unbound enzyme conjugated ที่ได้จากปฏิกิริยาแต่ละความเข้มข้นของ IgG บนเม็ดเลือดแดง ให้ค่าไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงไม่สามารถตรวจวัดปริมาณ IgG โดยวิธีนี้ได้ จึงได้ดัดแปลงวิธีการตรวจวัดใหม่ด้วยการใช้ซีรัมหมู่ AB เคลือบบนไมโครเพลทก่อน แล้วใส่ unbound enzyme conjugated ลงไป จากนั้นจึงวัด activity ของ enzyme ที่เกาะบนเพลท พบว่าสามารถวัดปริมาณ IgG ได้ต่ำถึง 3.28 ng ต่อหลุม ปริมาณ IgG ที่วัดได้แสดงถึงปริมาณของแอนติบอดี ที่ทำปฏิกิริยากับแอนติเจนของเม็ดเลือดแดง

Abstract

A microplate-enzyme linked antiglobulin test was developed to quantitate the amount of IgG antibody sensitized on red cell. The sensitized red cells were washed and then incubated with alkaline phosphatase conjugated anti-IgG. The unbound enzyme conjugated anti-IgG was measured by adding into substrate solution. Theoretically, the intensity of color occurred in the reaction was reversely varied in proportion to the concentration of antibody coated on red cells. The assay even was easy to perform but there was no different absorbance value measured from the reactions of different IgG concentrations. It was failed to detected the amount of IgG coated on red cells by this assay. We modified the quantitate assay by adding the unbound enzyme conjugated into microplate which already coated with AB serum. After washing the excess unbound enzyme conjugated, the substrate was added. The absorbance detected was varied directly to the amount of IgG on red cell. By this modified assay, we are able to measure the amount of IgG as low as 3.28 ng per one microplate well.