นิพนธ์ต้นฉบับ

Monoclonal Anti-C_{3d} Antibody (Clone $5C_4$)

รัชนี แก้วมงคล, กาญจนา เอี่ยมอัมพร, สุวิทย์ โพธิ์นิมิตร์, อัจฉรา ศิริพงษ์ชานุสิทธิ์ และ ทัศนีย์ สกุลดำรงค์พานิช

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

บทคัดย่อ: *โคลน $5C_4$ เป็นเซลล์สายพันธุ์ ที่ผลิต monoclonal anti-C_{3d} ที่ถูกคัดเลือกไว้ เนื่องจากให้ความแรง (ไตเตอร์) ความจำเพาะเจาะจง (Specificity) ดีทุกขั้นตอนของการทดสอบกับ C_3 coated RBC (C_{3b}, C_{3d}) ทั้ง in vitro และ in vivo โดยเจือจาง anti-C_{3d} หา dilution ที่เหมาะสม (เจือจางที่ 1/300) ซึ่งได้ทดลองผสมกับ Rabbit anti-human IgG serum เพื่อเตรียมเป็นน้ำยา anti-human globulin สำหรับศึกษาประสิทธิภาพทั้งความแรงและความจำเพาะเจาะจง เปรียบเทียบกับน้ำยา Rabbit anti-human globulin (AHS) ของศูนย์ฯและน้ำยา AHS ของต่างประเทศ 2 บริษัท พบว่ามีประสิทธิภาพดีเทียบเท่ากัน การศึกษานี้ทำให้พบว่า monoclonal anti-C_{3d} จากสายพันธุ์ $5C_4$ เหมาะสมที่จะนำมาเตรียมเป็นน้ำยา AHS แทน anti-C_{3d} ที่เดิมเตรียมจากซีรัมกระต่าย*

Key Words : ● *Monoclonal anti-C_{3d}*

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2545;12:91-7.

ในการพัฒนาเพื่อที่จะผลิต monoclonal anti-C_{3d} โดย mouse hybridoma technique[14] สำหรับใช้ในการเตรียม anti-human globulin serum (AHS) แทนการเตรียมจากซีรัมกระต่าย เนื่องจากการเตรียม anti-C_{3d} จากซีรัมกระต่ายจะต้องผ่านกระบวนการดูดซับเอา anti-C_4 รวมทั้ง non-specific antibodies ออกให้หมด ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ยุ่งยากและซับซ้อน ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (ศูนย์ฯ) ได้ผลิตน้ำยา AHS มาเป็นเวลากว่า 20 ปี โดยใช้วิธีเตรียมจากซีรัมกระต่าย แต่ในระยะ 10 ปีที่ผ่านมาได้นำ hybridoma technique มาพัฒนาการเตรียม anti-C_{3d} โดยในการศึกษาครั้งแรก[5] ได้ทำการทดลองเพื่อเลือกชนิดของแอนติเจนที่จะใช้ฉีดกระตุ้นหนู Balb/C และได้คัดเลือกแอนติเจนเป็น inulin adsorbed C_{3b} particles ซึ่งต่อมาคณะผู้ทำการศึกษาได้ใช้เป็นสารฉีดกระตุ้นหนูและคัดเลือกสายพันธุ์ที่ผลิต monoclonal anti-C_{3d} โดยได้สายพันธุ์ $5C_4$ และนำมาเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณเพิ่มขึ้นสำหรับนำมาทำการศึกษาคุณสมบัติทางด้าน serology เพื่อทดสอบความแรง (ไตเตอร์) และความจำเพาะเจาะจง กับ C_{3b} coated RBC ทั้ง in vitro และ in vivo โดยทำการทดสอบเปรียบเทียบกับน้ำยา AHS ของศูนย์ฯ และของต่างประเทศ เพื่อศึกษาถึงคุณสมบัติและประสิทธิภาพและสัดส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสม ก่อนที่จะนำมาเตรียมเป็นน้ำยา AHSแทนการเตรียมจากซีรัมกระต่าย

ได้รับต้นฉบับ 8 มีนาคม 2545 และให้ตีพิมพ์ 20 มีนาคม 2545

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ นางรัชนี แก้วมงคล ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ถนนอังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

1. การเตรียม complement coated red blood cells

1.1 การเตรียมเซลล์สำหรับใช้ทดสอบในหลอดทดลอง (In vitro)

1.1.1 ใช้ human complement component coated บนเซลล์เม็ดโลหิตแดง (rbc) หมู่โลหิต O (rbc group O) ตามวิธีของ Jenkin DE[6] (C_{3b}/C_{4b} และ C_{3d} KAF), Chaplin H[7] (C_{4b}) และ Fruitstone[8] (C_{3b} alternate pathway และ C_{3d} (AP) Tryp) และเตรียมเป็น 3-5% cell suspension ใน 0.15 M NaCl

1.1.2 เตรียมเซลล์ Le^a (C)[9] โดยใช้ RBC หมู่ O Le^{+a} sensitized ด้วย anti-Le^a + complement

1.2 เตรียมเซลล์สำหรับใช้ทดสอบกับเซลล์ที่ได้จากผู้ป่วย (In vivo)

1.2.1 ใช้เม็ดโลหิตแดงจากผู้ป่วยที่มีผลบวก direct antiglobulin test จำนวน 100 ตัวอย่าง นำมาล้าง 3 ครั้งด้วย 0.15 M NaCl เพื่อกำจัดแอนติบอดีที่อยู่ในซีรัม ออกให้หมดและเตรียมเป็น 3-5% cell suspension ใน 0.15 M NaCl

2. น้ำยา anticomplement ที่ใช้ทดสอบ

2.1 เตรียม monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) ที่เจือจาง 1/100 ,1/200 และ 1/300 ด้วย 1% bovine albumin (BA) in Imidazole Buffer Solution (IBS)

2.2 Rabbit anti-C_3, anti-C_{3d} และ anti-C_4 (Ortho)

2.3 น้ำยา AHS ของศูนย์ฯ (lot. 43025) และ AHS ของต่างประเทศ 2 บริษัท

วิธีการศึกษา

1. การทดสอบความแรง (ไตเตอร์) ด้วย hemagglutination test

1.1 โดยวิธีหลอดทดลองมาตราฐาน (standard direct antiglobulin tube test) โดยใช้ 100 μL ของ monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) ผสมด้วย 100 μL ของ 3-5% complement component coated RBC ใน 0.15 M NaCl หรือ Low Ionic Strength Solution (LISS) ปั่นอ่านผลทันที (immediately spin tube test) ที่ 3,400 rpm 15 วินาที และตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วปั่นอ่านผลอีกครั้ง

2. การทดสอบความจำเพาะ (specificity test)

2.1 ศึกษาปฏิกิริยาความจำเพาะของการจับกลุ่มโดยเจือจาง monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) ด้วย 1% bovine serum albumin (BSA) ใน imidazole barbital saline (IBS) นำมาทดสอบด้วยสารละลายเม็ดโลหิตแดงที่เตรียมเป็น 3-5% cell suspension ใน 0.15 M NaCl จากผู้บริจาคโลหิต ที่เป็น clotted blood, citrate blood (ACD หรือ CPD) ที่เก็บ 4°ซ. 24 ชั่วโมง เป็นหมู่โลหิต A, B, AB และ O หมู่ละ 20 ตัวอย่าง และที่เก็บ 4°ซ. 28 วันเป็นหมู่โลหิต A, B, AB และ O หมู่ละ 20 ตัวอย่าง

2.2 ทดสอบ heterospecific antibodies โดยใช้ clotted blood 24 ชั่วโมง เตรียมเป็น 3-5% ใน NSS เป็นหมู่โลหิต A, B, AB และ O หมู่ละ 40 ตัวอย่าง ผสมกับ monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) ที่เจือจาง 1/300 ทดสอบที่อุณหภูมิห้อง (20-30°ซ.), 37°ซ. และ ที่ 2-8°ซ. โดย incubate 30 นาที ในแต่ละอุณหภูมิที่ทดสอบ ปั่นอ่านผล ด้วยตาเปล่าและกล้องจุลทรรศน์

2.3 ทดสอบ indirect antiglobulin test โดยใช้หมู่โลหิต A, B, AB และ O ใน CPD ไม่เกิน 5 วัน หมู่ละ 20 ตัวอย่าง ล้างเซลล์ 3 ครั้งด้วย NSS เตรียมเป็น 3-5% ใน NSS ใช้ซีรัมใหม่ (1-2 วัน) จาก หมู่โลหิต A, B, AB และ O หมู่ละ 4 ตัวอย่าง โดยใช้ซีรัมใหม่แต่ละหมู่โลหิตทำปฏิกิริยากับเซลล์หมู่เดียวกัน 5 ตัวอย่าง (ซีรัมโลหิตหมู่ A_1 1 ตัวอย่างใช้ทดสอบกับเซลล์เม็ดโลหิตแดงหมู่ A 5 ตัวอย่าง) แล้วนำไป incubate ที่ 37°ซ. 30 นาที นำมาปั่นล้าง 3 ครั้ง แล้วหยด monoclonal anti-

C_{3d} ($5C_4$) ที่เจือจาง 1/300 2 หยด ผสมให้เข้ากัน ปั่น อ่านผล ด้วยตาเปล่าและกล้องจุลทรรศน์

2.4 ทดสอบกับ trypsin treated cells and papain treated cells โดยใช้ citrate blood เก็บที่ 4 °ซ. 24 ชั่วโมง เป็นหมู่โลหิต A, B, AB และ O หมู่ละ 20 ตัวอย่าง นำมา sensitized ด้วยเอ็นไซม์ Trypsin และ Papain และเตรียมเป็น 3-5% cell suspension แล้วนำมาทดสอบกับ monoclonal anti-C_{3d} ปั่นอ่านผลทันที และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที ปั่นอ่านผลด้วยตาเปล่าและกล้องจุลทรรศน์

ผลการทดลอง

ได้นำ monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) มาทดสอบความแรง (ไตเตอร์ และ score) กับ complement component coated rbc (C_{3b}, C_{3d},C_{4b} และ uncoated) ซึ่งผลการทดลองดังแสดงบนตารางที่ 1

จากตารางที่ 1 พบว่า monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) มีความแรง (ไตเตอร์) เท่ากันกับทุก C_3 coated RBC ที่ใช้ทดสอบ แต่ความแรงที่อ่านเป็นคะแนน (score)[10] แตกต่างกัน ซึ่งความแรงเป็น score ด้วย C_{3b}/C_{4b} และ C_{3b} (AP) coated rbc ได้คะแนนเท่ากันคือ 117 คะแนน และความแรงปฏิกิริยาด้วย C_{3d}/C_{4d} Tryp. และ C_{3d} (AP) Tryp. ได้คะแนนเท่ากับ 124 คะแนนเท่ากัน ส่วนความแรงเป็น score ที่ทดสอบด้วย Le^aC เท่ากับ 112 คะแนน ซึ่งต่ำกว่าเซลล์อื่นๆ เล็กน้อย จากผลการทดสอบนี้สรุปได้ว่า ความแรง (ไตเตอร์) ที่ทดสอบด้วยเซลล์ต่างๆ มีความแรงเท่ากันคือ 1/4096 และความแรงเป็น score มีความแตกต่างกันไม่มาก ดังนั้นจึงได้นำ monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) ที่เจือจาง 1/100, 1/200 และ 1/300 มาทดสอบความแรง (ไตเตอร์) เปรียบเทียบกับ AHS ของศูนย์ฯ (lot. 43025) และของต่างประเทศ 2 บริษัท ผลการทดลองดังแสดงบนตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงความแรง (ไตเตอร์ และ score) ของ monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) ด้วย complement coated rbc

Red blood cells coated with	Titre	Score
C_{3b}/C_{4b}	4096	117
C_{3d}/C_{4d} Tryp.	4096	124
C_{3b} (AP)	4096	117
C_{3d} (AP) Tryp.	4096	124
Le^aC	4096	112
C_{4b}	0	0
Uncoated	0	0

จากตารางที่ 2 พบว่า ความแรง (ไตเตอร์) ที่ทดสอบด้วย C_{3b} และ C_{3d} coated rbc เท่ากันทุกชนิดของน้ำยาที่ใช้ทดสอบคือไตเตอร์ 16 แต่ความแรงเป็น score แตกต่างกัน พบว่าที่เจือจาง 1/100 ปฏิกิริยาความแรงเป็น score ด้วย C_{3b} และ C_{3d} coated RBC สูงสุด ส่วนที่เจือจาง 1/200 ปฏิกิริยาความแรง score ด้วย C_{3b} coated rbc มีความแรง score ใกล้เคียงกับน้ำยา AHS ของศูนย์ฯ และของต่างประเทศทั้ง 2 บริษัท และที่เจือจาง 1/300 ปฏิกิริยาความแรง score ด้วย C_{3b} coated rbc มีความแรง score น้อยกว่าน้ำยา AHS ของศูนย์ฯ และของต่างประเทศทั้ง 2 บริษัท ส่วนปฏิกิริยาความแรง score ด้วย C_{3d} coated RBC มีความแรงใกล้เคียงกับน้ำยาของศูนย์ฯ และของต่างประเทศทั้ง 2 บริษัท

จากตารางที่ 3 พบว่าที่การเจือจาง 1/100 ให้ผลบวกกับบางเซลล์ทุกการทดสอบ (4 การทดสอบ) และทุกเซลล์ที่ใช้ทดสอบ มองเห็นด้วยตาเปล่า ส่วนการเจือจางที่ 1/200 พบว่าให้ผลบวก กับทุกการทดสอบและทุกเซลล์ที่ใช้ทดสอบ ทั้งดูด้วยกล้องจุลทรรศน์และดูด้วยตาเปล่า และที่การเจือจาง 1/300 ให้ผลลบ กับทุกการทดสอบและทุกเซลล์ที่ใช้ทดสอบ เหมือนกับน้ำยา AHS ของศูนย์ฯ

ดังนั้นผลการทดลองจากตารางที่ 2 และตารางที่ 3 จึงได้คัดเลือก monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) ที่ความ

ตารางที่ 2 แสดงความแรงของ monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) ที่เจือจาง 1/100, 1/200 และ 1/300 แล้วทำการเจือจางต่อไปอีกโดย two fold dilution (เริ่มจาก neat ถึง 1/16) และทดสอบด้วย 3-5% C_{3b}, C_{3d} coated RBC โดยทดสอบเปรียบเทียบกับน้ำยา AHS ของศูนย์ฯ (lot. 43025) และของต่างประเทศ 2 บริษัท (commercial 1 และ commercial 2)

Reagent	RBC coated with	Titre	Score
Dilute 1/100 (clone $5C_4$)	C_{3b}	16	50
	C_{3d}	16	38
Dilute 1/200 (clone $5C_4$)	C_{3b}	16	42
	C_{3d}	16	27
Dilute 1/300 (clone $5C_4$)	C_{3b}	16	25
	C_{3d}	16	19
Anti-human globulin	C_{3b}	16	42
(NBC lot. 43025)	C_{3d}	16	21
Anti-human globulin	C_{3b}	16	44
(commercial 1)	C_{3d}	16	17
Anti-human globulin	C_{3b}	16	47
(commercial 2)	C_{3d}	16	20

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบความจำเพาะของ monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) กับเซลล์หมู่โลหิต ABO

Method	Monoclonal anti-C_{3d}			AHS (ศูนย์ฯ)
	Dilute 1/100	Dilute 1/200	Dilute 1/300	
1. Direct antiglobulin test	Positive	Positive	Negative	Negative
2. Heterospecific antibodies	Positive	Positive	Negative	Negative
3. Indirect antiglobulin test	Positive	Positive	Negative	Negative
4. Enzyme treated cells	Positive	Positive	Negative	Negative

เข้มข้น 1/300 นำมาทดสอบกับเลือดผู้ป่วยที่ได้จากธนาคารเลือด โรงพยาบาลจุฬาฯ ซึ่งให้ผลบวกกับการทดสอบ direct antiglobulin test จำนวน 100 ตัวอย่าง โดยทดสอบเปรียบเทียบกับ น้ำยา AHS ของศูนย์ฯ (lot. 43025), AHS*, Rabbit anti-C_{3d} (commercial) และ Rabbit anti-IgG (ศูนย์ฯ) ผลการทดสอบดังตารางที่ 4

จากผลการทดลองในตารางที่ 4 เลือดผู้ป่วยจำนวน 100 ตัวอย่าง ซึ่งได้ทำการทดสอบแล้วและให้ผลบวกกับ direct antiglobulin test ทุกรายก่อนนำมาทดสอบ

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบเปรียบเทียบความจำเพาะของ monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$), Rabbit anti-C_{3d} (commercial), AHS*, AHS (ศูนย์ฯ) และ Rabbit anti-IgG (ศูนย์ฯ) กับตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยจำนวน 100 ตัวอย่าง

Patient cell reaction pattern	Monoclonal anti-C_{3d}	Rabbit anti-C_{3d} (Commercial)	Anti-C_{3d} +Rabbit anti-IgG		Rabbit anti-IgG (ศูนย์ฯ)	Total
			AHS (ศูนย์ฯ)	AHS*		
1	+	+	+	+	-	28
2	+	+	+	+	+	49
3	-	-	+	+	+	7
4	-	-	-	-	-	16

หมายเหตุ: AHS* = Monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) + Rabbit anti-IgG

ด้วย monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$), Rabbit anti-C_{3d} (บริษัท), AHS*, AHS (ศูนย์ฯ) และ Rabbit anti-IgG (ศูนย์ฯ) พบว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับแอนติบอดีต่างๆ ที่ใช้ทดสอบแบ่งเป็น 4 ลักษณะดังนี้

1. ให้ผลบวกเฉพาะกับ monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$), Rabbit anti-C_{3d}, AHS* และ AHS (ศูนย์ฯ) และให้ผลลบกับ Rabbit anti-IgG จำนวน 28 ตัวอย่าง ซึ่งแปลผลได้ว่า บนเม็ดโลหิตแดงของผู้ป่วยจำนวน 28 ตัวอย่าง มีเฉพาะส่วนของ C_{3d} เกาะบนผิวเม็ดโลหิตแดง

2. ให้ผลบวกกับแอนติบอดีทุกชนิดที่ใช้ทดสอบ จำนวน 49 ตัวอย่าง ซึ่งแปลผลได้ว่า บนเม็ดโลหิตแดงของผู้ป่วยจำนวน 49 ตัวอย่าง มีทั้ง C_{3d} และแอนติบอดีชนิด IgG เกาะบนผิวเม็ดโลหิตแดง

3. ให้ผลบวกกับเฉพาะ AHS (ศูนย์ฯ), AHS*, Rabbit anti-IgG และให้ผลลบกับ monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) และ Rabbit anti-C_{3d} จำนวน 7 ตัวอย่าง ซึ่งแปลผลได้ว่าบนเม็ดโลหิตแดงของผู้ป่วยจำนวน 7 ตัวอย่าง มีเฉพาะส่วนของแอนติบอดีชนิด IgG เกาะบนผิวเม็ดโลหิตแดง

4. ให้ผลลบกับทุกแอนติบอดี จำนวน 16 ตัวอย่าง ซึ่งแปลผลได้ว่าเลือดผู้ป่วยก่อนที่จะนำมาทดสอบในครั้งนี้อาจจะเก็บนาน อุณหภูมิไม่เหมาะสมหรือเกิด hemolysis ซึ่งทำให้แอนติบอดีที่เกาะบนเม็ดโลหิตแดงมีน้อยลงหรือตรวจไม่พบเลย

สรุปและวิจารณ์

จากผลการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพของ monoclonal anti-C_{3d} ($5C_4$) ที่การเจือจาง 1/300 เมื่อทดสอบเปรียบเทียบกับ AHS ของศูนย์ฯ และของต่างประเทศทางด้านความแรง (ไตเตอร์ และ score) และความจำเพาะ กับ C_{3d} coated rbc (C_{3b}, C_{3d}) ทั้ง in vitro และ in vivo ดีเทียบเท่ากับ AHS ของศูนย์ฯ และของต่างประเทศ และการเจือจางที่ 1/300 เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม สามารถที่จะนำมาใช้เตรียมเป็นน้ำยา AHS แทนวิธีการเตรียมจากซีรัมกระต่าย (Rabbit anti- C_{3d}) ซึ่งการเตรียม anti-C_{3d} จาก monoclonal จะมีข้อดีคือได้ anti-C_{3d} ที่ไม่มีการปนเปื้อนจาก anti-C_4 และได้แอนติบอดีที่มีความแรงสม่ำเสมอ สามารถทำการเจือจางได้มากโดยใช้สายพันธุ์ $5C_4$ เลี้ยงขยายได้ anti-C_{3d} ในปริมาณไม่จำกัดแต่คุณภาพคงเดิม ไม่ต้องใช้หนูทดลองซ้ำอีก นอกจากนี้ยังสามารถใช้ pure monoclonal anti-C_{3d} สำหรับใช้ทดสอบในขั้นตอนการเตรียม C_3 coated rbc ซึ่งเดิมต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศในราคาแพง

นอกเหนือจากการทดสอบคุณสมบัติทางด้าน Serol-

ogy แล้ว ก่อนที่จะนำ monoclonal anti-C_{3d} ไปใช้ในการเตรียมเป็น AHS สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการทางธนาคารเลือด จะต้องศึกษาชนิดของ class และ subclass Igs[11] เพื่อจะได้รู้จักคุณสมบัติของ monoclonal anti-C_{3d} และสามารถใช้เป็นแนวทางในการนำไปแปลผลร่วมกับการศึกษาคุณสมบัติทางด้าน Serology ได้

เอกสารอ้างอิง

1. *Kohler G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibodies of predefined specificity. Nature 1975;256:495-7.*
2. *Kohler G, Howe SC, Milstein C. Fusion between immunoglobulin secreting and non-secreting myeloma cell lines. Evr J Immunol 1975;65:292-5.*
3. *Lachman PJ, Oldroyd RG, Milstein C, Wright B. Three rat monoclonal antibodies to human C_3. Immunology 1980;41:305-15.*
4. *Holt PDS, Donaldson C, Judson PA, Johnson P, Parsons SF, Anstee DJ. NBTS/BRIC 8 : a monoclonal anti-C_{3d} antibody. Trasfusion 1985;25:267-9.*
5. *รัชนี พลเทียร และคณะ. A comparision of monoclonal antibodies against human C_3 complement (anti-C_{3d}) using 2 different antigens by hybridoma technique. Thai J Hematol Transf Med 1996;6:191-7.*
6. *Jenkins DE, Moore WH, Luthringer DG, Johnson RM. A rapid method for the production of erythrocytes in the state "EC_4" and "EC_{43}". Transfusion 1975;15:402-7.*
7. *Chaplin H, Monroe MC, Lachman PJ. Further studies of the C_{3g} component of the 2D fragment of human C_3. Clin Exp Immunol 1983;51:639-46.*
8. *Fruitstone MJ. C_{3b} sensitized erythrocytes. Transfusion 1978;18:125.*
9. *Stratton F, Rawlinson VI. Preparation of test cells for the antiglobulin test. J Clin Pathol 1974;27:359-67.*
10. *AABB Technical Manual. 12th edition 1996.*
11. *Mc Dougal JS, Browning SW, Kennedy S, Moore DD. Immunodot assay for determining the Isotype and light chain type of murine monoclonal antibodies in unconcentrated hybridoma culture supernates. J Immunol Meth 1983;63:281-90.*

Monoclonal Anti-C_{3d} Antibody (Clone $5C_4$)

Rachanee Kaewmongkol, Kanjana Aimamporn, Suwit Phonimit,

Achara Siripongsanusit and Tasanee Sakuldamrongpanich

National Blood Centre, Thai Red Cross Society

Abstract: *The clone $5C_4$ which is a stable mouse hybridoma line secreting monoclonal anti-C_{3d} was selected. It was high potency (titer) and specificity which reacted with complement coated red blood cells both in vitro and in vivo. Anti-C_{3d} secreting clone $5C_4$ can be used at a final dilution of 1 to 300 to provide an excellent antiglobulin reagent when mixed with a suitable dilution of rabbit anti-IgG serum to prepare anti-human globulin reagent (AHS). To evaluate the potency and specificity. It was tested the potency and specificity to compare with polyclonal (rabbit) antiglobulin reagent conventionally prepared by NBC, TRC and 2 commercial reagents. It was found that the blended antiglobulin reagent gave as good quality as polyclonal (rabbit) anti globulin reagent. This report suggested that monoclonal anti-C_{3d} from clone $5C_4$ could substitute anti-C_{3d} from rabbit source in the routine preparation of antiglobulin reagent.*

Key Words : ● *Monoclonal anti-C_{3d}*

Thai J Hematol Transf Med 2002;12:91-7.

จริตหก

จิตมนุษย์ นึกนึก รู้สึกแปลก
มันจะแยก ยุ่งยาก มากใหญ่หลวง
ที่ท่านบาก ออกแถลง แจ้งเป็นดวง
บัดนี้ห่วง จริตหา ลองถกดู
คือราคะ โทสะ โมหะสาม
วิตกตาม ศรัทธา เสียท่าอยู่
รวมพุทธิ อวดฉลาด พลาดประตู
จริตอยู่ เราอยู่ คู่เวรกรรม

ธมมสาโร ภิกขุ วัดบวรฯ