

นิพนธ์ต้นฉบับ

การผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิต โมโนโคลนัลแอนติ -เอ, -บี โดยใช้เทคนิคไฮบริโดมา

รัชณี แก้วมงคล, อุดม ดึงต้อย และ ทศนีย์ สกุดำรงค์พานิช

ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

บทคัดย่อ: โคลน $18C_6$ ที่เป็น anti-A secreting clone ได้จากการเชื่อมเซลล์ม้ามหนู Balb/C ที่ฉีดกระตุ้นด้วย แอนติเจนชนิด group A_1 และ A_2B red blood cell และ mouse myeloma cell สายพันธุ์ X653-Ag8 (X.653) ได้ทดสอบความแรง (titer) ความจำเพาะ (specificity) ในการทำปฏิกิริยากับหมู่โลหิต A_1 และหมู่โลหิตย่อย A (A_2 , A_2B , A_3 , A_3B และ A_x) พบว่าเกิดปฏิกิริยากับเซลล์เหล่านี้ดีทั้งความแรงและความจำเพาะโดยเฉพาะกับหมู่โลหิตย่อย A_x cells แต่ให้ผลบวกกับเซลล์ papainized B ไม่เหมาะสมที่จะนำมาผลิตเป็นน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดโมโนโคลนัลแอนติ-เอ จึงได้ทดลองผสม anti-A secreting clone ($18C_6$) กับ anti-A secreting clone ($16G_4$) ที่ใช้ผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดโมโนโคลนัลแอนติ-เอ ซึ่งมีความเร็วของปฏิกิริยาจับกลุ่มได้ดีร่วมกับ anti-B secreting clone ($18F_9$) เพื่อเตรียมเป็นน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดโมโนโคลนัลแอนติ -เอ, บี โดยได้ทดสอบเปรียบเทียบกับน้ำยาตรวจหมู่โลหิตที่เตรียมจากพลาสมาผู้บริจาคโลหิต (โพลีโคลนัลแอนติ -เอ, บี) และน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดโมโนโคลนัลแอนติ -เอ, บี ของต่างประเทศจำนวน 2 บริษัท พบว่าน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดโมโนโคลนัลแอนติ -เอ, บี ที่เตรียมนี้ได้ผลความเร็วกว่าของปฏิกิริยาจับกลุ่มและความแรงดีกว่าน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดโพลีโคลนัลแอนติ -เอ, บี ที่เตรียมจากพลาสมาของศูนย์บริการโลหิตฯ และดีเทียบเท่าโมโนโคลนัลแอนติ -เอ, บี ของต่างประเทศ ดังนั้นจึงเหมาะที่จะนำมาผลิตเป็นโมโนโคลนัลแอนติ -เอ, บี ได้

Key Words : ● Blood group ● Hybridoma

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2543;10:175-81.

เป็นที่ทราบกันว่าแอนติ-เอ, บี สามารถตรวจหมู่โลหิตย่อย A_x ได้ดีกว่าแอนติ-เอ และตามที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้ผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดโมโนโคลนัลแอนติ-เอ¹ และแอนติ-บี^{2,3} โดย

วิธีไฮบริโดมาเทคนิค⁴⁻⁸ นำมาใช้แทนน้ำยาตรวจหมู่โลหิตที่ผลิตจากพลาสมาผู้บริจาคเป็นผลสำเร็จ แต่เนื่องจากโคลน $16G_4$ ที่ใช้ผลิตโมโนโคลนัลแอนติ-เอ ไม่สามารถตรวจหมู่โลหิตย่อย A_x และทำปฏิกิริยาอย่างอ่อนกับเซลล์ A_3 ได้ไม่ดี ทำให้ไม่เหมาะสมที่จะนำมาเตรียมเป็นแอนติ-เอ, บี จึงได้ทำการพัฒนาการผลิตโมโนโคลนัลแอนติ-เอ, บี โดยฉีดกระตุ้นหนู Balb/C ด้วย 10% A_1

ได้รับต้นฉบับ 21 กรกฎาคม 2543 และให้ตีพิมพ์ 9 ตุลาคม 2543

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ นางรัชณี แก้วมงคล ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ถนนอังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

และ A_2B red blood cells ตามวิธีที่ผลิตแอนติ - เอและแอนติ - บี ซึ่งได้ โคลนแอนติ-เอ เป็นจำนวนมากแต่ได้คัดเลือกไว้ 1 โคลน คือ $18C_6$ นำมาทดสอบความแรงความเร็วในการเกิดปฏิกิริยาการจับกลุ่ม และความจำเพาะ จากการศึกษาพบว่าโคลน $18C_6$ ให้ความแรงสูง (high titer) เมื่อทำปฏิกิริยากับหมู่โลหิต A_1 , A_1B , A_2 และสามารถตรวจหมู่โลหิตย่อย A_3 และ A_x ได้ดี ซึ่งเมื่อทดสอบด้วยเม็ดโลหิตแดงหมู่ B ให้ปฏิกิริยาลบแต่ให้ปฏิกิริยาบวกกับเซลล์ papainized B จากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้ไม่เหมาะที่จะนำโคลนนี้มาเตรียมเป็นน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดโมโนโคลนัลแอนติ-เอ แต่สามารถที่จะนำมาผลิตแอนติ-เอ, บี จึงได้ทดลองผสมโคลน $18C_6$ กับโคลน $16G_4$ (ใช้ผลิตโมโนโคลนัลแอนติ-เอ) และโคลน $18F_8$ (ที่ใช้ผลิตโมโนโคลนัลแอนติ-บี) เพื่อเตรียมเป็นโมโนโคลนัลแอนติ-เอ, บี และได้นำมาศึกษา ความเร็ว ความเร็วในการเกิดปฏิกิริยาการจับกลุ่ม และความจำเพาะ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับน้ำยาแอนติ-เอ, บี ที่ผลิตจากซีรัมผู้บริจาคและน้ำยาโมโนโคลนัลแอนติ-เอของต่างประเทศ 2 บริษัท (Ortho. และ Biotest)

วัสดุและวิธีทำ

วัสดุ

1. Culture supernatant ของโคลน $18C_6$ ที่เกิดการจากเชื่อม (fusion) X.653 myeloma cell line กับ spleen cells ของหนูที่ฉีดกระตุ้นด้วย 10% A_1 และ A_2 red cells ตามวิธีที่ผลิตโมโนโคลนัลแอนติ-เอ, แอนติ-บี¹⁻³
2. Culture supernatant ของโคลน $16G_4$ ที่ใช้เตรียมโมโนโคลนัลแอนติ-เอ ของศูนย์บริการโลหิตฯ¹
3. Culture supernatant ของโคลน $18F_8$ ที่ใช้เตรียมโมโนโคลนัลแอนติ-บี ของศูนย์บริการโลหิตฯ²
4. โมโนโคลนัลแอนติ-เอ, บี โดยผสม culture supernatant ของโคลน $18C_6$, $16G_4$ (anti-A) และโคลน $18F_8$ (anti-B) แล้วเพิ่ม potentiante โดยใส่ NaCl

และใส่ Na_3EDTA เพื่อป้องกันการเกิด hemolysis

5. โมโนโคลนัลแอนติ-เอ และ แอนติ-บี ของศูนย์บริการโลหิตฯ
6. โพลีโคลนัลแอนติ-เอ (ศูนย์ฯ, Lot. 3705)
7. โมโนโคลนัลแอนติ-เอ, บี แอนติ-เอ และแอนติ-บี ของ Ortho. และ Biotest
8. เม็ดโลหิตแดง

8.1 เตรียม 2-5% A_1 , A_2 , A_2B , B และ O cell suspension ในน้ำเกลือ (นำ ACD หรือ CPD whole blood มาทำการปั่นล้างด้วยน้ำเกลือ (0.15 M NaCl) 3 ครั้ง เตรียมเป็น 2-5% cell suspension ในน้ำเกลือ)

8.2 เตรียม 2-5% A_3 , A_x , B_3 และ Bw cell suspension ในน้ำเกลือ

8.3 เตรียม 2-5% A_1 , A_1B , A_2B , B และ O cell suspension ในน้ำเกลือ

8.4 เตรียม 2-5% papainized B และ O cells โดยผสม 1 ส่วนของ packed cells กับ 4 ส่วนของ working papain solution (อัตราส่วน 1:9 ของ 1% stock papain solution และ PBS pH 6.0) ผสมให้เข้ากัน incubate ที่ $37^\circ C$ 30 นาที ปั่นล้าง 3 ครั้งด้วยน้ำเกลือ แล้วเตรียมเป็น 2-5% cell suspension ในน้ำเกลือ

วิธีทำ

1.1 ตรวจหาความแรงแอนติบอดี (antibody titration) ด้วย 2-5% เม็ดโลหิตแดงในน้ำเกลือและ 2-5% papainized cell โดย tube test ใช้ 1 ส่วนของแอนติบอดีที่ถูกเจือจาง (two-fold serial dilution) ผสมกับ 1 ส่วนของ 2-5% เม็ดเลือดแดงในน้ำเกลือ ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที ปั่นอ่าน ผลที่ 3,400 rpm. 15 วินาที

1.2 ทดสอบความเร็วในการเกิดปฏิกิริยาการจับกลุ่มในการทำปฏิกิริยาบน glass slide ผสมแอนติบอดีและ 10% เม็ดเลือดแดงในน้ำเกลือ ในอัตราส่วน 1:1 อ่านผลจบเวลาเมื่อเริ่มมีปฏิกิริยาการจับกลุ่มและอ่านผลความ

แรงของปฏิกิริยาหลังจาก 2 นาที ของการเกิดปฏิกิริยาการจับกลุ่ม

2. การทดสอบความจำเพาะ (specificity testing)

ได้ศึกษาปฏิกิริยาความจำเพาะของการจับกลุ่มโดย tube technique ใช้ 1 ส่วนของแอนติบอดีผสม 1 ส่วนของ 2-5% เม็ดเลือดแดงของผู้บริจาคที่ทราบหมู่โลหิตในน้ำเกลือผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาทีปั่นอ่านผลที่ 3,400 rpm. จำนวน 2,678 ราย รวม cord blood samples จำนวน 38 ราย

ผลการศึกษา

จากผลการทดลอง เมื่อใช้ 10% red cell group A₁ และ A₂ เป็นแอนติเจนและระยะเวลาการฉีดกระตุ้น จะ

ทำตามการทดลองเดิมที่สามารถผลิตไมโนโคลนัลแอนติ-เอ ได้สำเร็จ¹ และคัดเลือกโคลน 18C₆ ไว้เพราะได้ไตเตอร์สูงด้วยหมู่โลหิต A₁ และหมู่โลหิตย่อย A₂, A₂B โดยเฉพาะกับหมู่โลหิตย่อย A₃, A_x แตกต่างจากโคลน 16G₄ (ที่ใช้ผลิตไมโนโคลนัลแอนติ-เอ)

จากตารางที่ 1 ผลการทดสอบพบว่า culture supernatant จากโคลน 18C₆ (anti-A), 16G₄ (anti-A) และ 18F₈ (anti-B) เมื่อทำปฏิกิริยากับหมู่โลหิต A โคลน 18C₆ ให้ผลความแรงของปฏิกิริยาดีกว่าโคลน 16G₄ และตีเทียบเท่า anti-A (Ortho.) อีกทั้ง culture supernatant โคลน 18C₆ ทำปฏิกิริยากับเซลล์ A_x ได้ดีเช่นเดียวกับ anti-A (Ortho.) ขณะที่ culture supernatant โคลน 16G₄ ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับเซลล์ A_x ได้เลย

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบไตเตอร์ของ culture supernatant จากโคลน 18C₆ (anti-A), 16G₄ (anti-A) และ 18F₈ (anti-B) เปรียบเทียบกับ monoclonal anti-A, anti-B (NBC) และ monoclonal anti-A, anti-B (Ortho.)

Tested cells	Titer of products against various red cells						
	18C ₆	16G ₄	Monoclonal anti-A(NBC)	Monoclonal anti-A(Ortho.)	18F ₈	Monoclonal anti-B(NBC)	Monoclonal anti-B(Ortho.)
A ₁	1024	128	256	1024	0	0	0
A ₂	512	64	128	512		0	0
A ₁ B	1024	128	256	1024	1024	512	1024
A ₂ B	512	64	128	1024	1024	512	1024
A _{cord}	1024	64	128	1024	0	0	0
A ₃ ¹	mf	0	mf	mf	0	0	0
A ₃ ²	mf	0	mf	mf	0	0	0
A _x	+1 ^{mf}	0	mf	mf	0	0	0
B	0	0	0	0	1024	512	1024
O	0	0	0	0	0	0	0
B papainized	+	0	0	0	NT	NT	NT
O papainized	0	0	0	0	0	0	0

หมายเหตุ: Average titers with different blood samples

mf = mixed field; A₃¹, A₃² = weak subgroup A; NT = not tested; 0 = negative;

NBC = National Blood Centre Thai Red Cross Society

แต่เมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับ papainized B และ O cells โคลน 18C₆ ให้ผลบวกกับ papainized B cell และลบกับ papainized O cells ส่วนโคลน 16G₄ ให้ผลลบเช่นเดียวกับ anti-A (Ortho.)

จากตารางที่ 2 การทดสอบปฏิกิริยาการจับกลุ่มกับหมู่โลหิตย่อย A ต่างๆ พบว่าแอนติบอดีจากโคลน 18C₆

สามารถตรวจ A₃ และ A_x ได้ทุกราย ขณะที่แอนติบอดีจากโคลน 16G₄ สามารถตรวจ A₃ ได้บางรายและไม่สามารถตรวจ A_x ได้เลย ส่วน anti-A (Ortho.) สามารถตรวจได้ทุกรายเช่นกันแต่ให้ผลอ่อนกว่าแอนติบอดีจากโคลน 18C₆

จากตารางที่ 3 และตารางที่ 4 เมื่อทดลองผสม

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบปฏิกิริยาการจับกลุ่มกับ weak ABO variants

Antibodies / cells	A ^{1w} ₃	A ^{2w} ₃	A ³ ₃	A ⁴ ₃	A ₃ B	A ¹ _x	A ² _x
Clone 18C ₆	+1 mf	mf	+2 mf	+1 mf	mf	+1 mf	+1 mf
Clone 16G ₄	0	0	0	0	0	0	0
Monoclonal anti-A (Ortho)	+1 mf	mf	+1 mf	+1 mf	mf	mf	mf

A^{1w}₃, A^{2w}₃ : weak A₃; A³₃, A⁴₃ : strong A₃

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบผลการทดสอบความแรงของ monoclonal anti-A,B (NBC), polyclonal anti-A,B (NBC) และ monoclonal anti-A,B (Ortho. และ Biotest)

Antibodies / cells	A ₁	A ₁ B	A ₂	A _{cord}	B	B _{cord}
Monoclonal anti-A,B ¹	512	512	256	512	512	512
Clone18C ₆ +16G ₄ (anti-A) +18F ₈ (anti-B)						
Polyclonal anti-A,B (NBC)	256	256	128	128	256	128
Monoclonal anti-A,B (Ortho.)	1024	1024	512	512	1024	512
Monoclonal anti-A,B (Biotest)	1024	1024	512	512	1024	512

1 = 1/2:1:1 Mixture [Clone 18C₆ (anti-A) + Clone 16G₄ (anti-A) + 18F₈ (anti-B)]

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบผลการทดสอบ ปฏิกิริยาการจับกลุ่มของ monoclonal anti-A,B (NBC), polyclonal anti-A,B (NBC) และ monoclonal anti-A,B (Ortho., Biotest) กับ cells ต่างๆ ที่เป็น subgroup

Antibodies / cells	A ¹ ₃	A ² ₃	A ³ ₃	A _x	A _x	B ₃	AB _{Hm}
Monoclonal anti-A,B (NBC)	+2 mf	mf	+1 mf	mf	mf	+1 mf	+2 mf
Polyclonal anti-A,B (NBC)	mf	mf	+1 mf	mf	mf	mf	+1 mf
Monoclonal anti-A,B (Ortho)	+1 mf	mf	+1 mf	mf	mf	mf	+1 mf
Monoclonal anti-A,B (Biotest)	+1 mf	mf	+1 mf	mf	mf	mf	+1 mf

A¹₃ = strong A₃; A²₃ = weak A₃; A³₃ = weak A₃

ตารางที่ 5 การตรวจสอบความจำเพาะของ monoclonal anti-A,B (NBC) โดยใช้เลือดจากผู้บริจาคจำนวน 2,640 ราย และจาก cord blood จำนวน 38 ราย

Reaction		Red Blood Cells					
		A ₁	A ₁ B	A ₂ B	B	O	Total
Adult	Positive	584	294	32	787	-	2,640
	Negative	-	-	-	-	943	
Cord	Positive	15	3	1	11	-	38
	Negative	-	-	-	-	8	

แอนติบอดีจากโคลน 18C₆, 16G₄ และ 18F₈ รวมกันเป็น anti-A,B ในอัตราส่วน 1/2:1:1 แล้วทดสอบความแรงพบว่าโมโนโคลนัล anti-A,B นี้สามารถทำปฏิกิริยากับเซลล์ A₁, A₁B, A₂, A_{cord}, B, B_{cord} ได้ความแรงดีกว่า polyclonal anti-A,B (NBC) แต่ให้ผลอ่อนกว่า monoclonal anti-A,B จากต่างประเทศทั้ง 2 บริษัท เมื่อนำมาทดสอบกับหมู่โลหิตย่อย A₃, A_x, B₃ และ B_w พบว่า monoclonal anti-A,B (NBC) ให้ผลการตรวจพบหมู่โลหิตย่อยต่างๆ บางเซลล์ดีกว่า polyclonal anti-A,B (NBC) และ monoclonal anti-A,B จากต่างประเทศ

จากตารางที่ 5 เป็นการทดสอบความจำเพาะของ monoclonal anti-A,B (NBC) โดยให้ทำปฏิกิริยากับเม็ดโลหิตแดงที่ได้จาก clotted blood ที่ทราบหมู่โลหิตจำนวน 2,640 ราย และ cord blood จำนวน 38 รายที่ตรวจหมู่โลหิตและทราบผลแล้ว พบว่าให้ปฏิกิริยาบวกและลบตรงกับหมู่โลหิตที่ตรวจไว้แล้วทั้งหมด

วิจารณ์

จากคุณสมบัติต่างๆของแอนติบอดีจากโคลน 18C₆ ตามที่ได้แสดงในตารางที่ 1 และที่ 2 พบว่าแอนติบอดีนี้มีความแรงในการทำปฏิกิริยากับหมู่โลหิต A₁ และหมู่โลหิตย่อย A ได้ดีกว่าแอนติบอดีที่ได้จากโคลน 16G₄ (ที่ใช้ผลิตโมโนโคลนัลแอนติ-เอ) แต่แอนติบอดีนี้ให้ผลลบกับเซลล์ papainized O แต่ให้ผลบวกกับเซลล์

papainized B ดังนั้นจึงไม่สามารถนำมาผลิตเป็น monoclonal anti-A ได้ อย่างไรก็ตามแอนติบอดีนี้สามารถตรวจพบเซลล์ A_x ได้ดี คณะผู้วิจัยจึงทดลองนำมาผสมกับแอนติบอดีจากโคลน 16G₄ (anti-A) และแอนติบอดีที่ได้จากโคลน 18F₈ (anti-B) เพื่อนำมาผลิตเป็นน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดโมโนโคลนัลแอนติ-เอ,บี เนื่องจากเป็นที่ทราบกันว่าโพลีโคลนัลแอนติ-เอ,บี ที่เตรียมจากพลาสมาของคนมีคุณสมบัติ 2 ประการคือ ใช้ยืนยันผลการตรวจหมู่โลหิตที่ตรวจด้วย แอนติ-เอ แอนติ-บี และ แอนติ-เอ,บี จะมีคุณสมบัติในการตรวจพบหมู่โลหิตย่อยโดยเฉพาะอย่างยิ่ง A_x ได้ดีกว่า แอนติ-เอ ดังนั้นแอนติบอดีจากโคลน 18C₆ ซึ่งให้ผลปฏิกิริยาความแรงดีกับเซลล์ A และตรวจพบหมู่โลหิตย่อยต่างๆ โดยเฉพาะ A_x ได้ดีถึงแม้จะให้ผลบวกกับเซลล์ papainized B ก็เหมาะสมที่จะนำมาเตรียมเป็นโมโนโคลนัลแอนติ-เอ,บี เพื่อใช้แทนโพลีโคลนัลแอนติ-เอ,บี ได้ ซึ่งจะช่วยให้มีประสิทธิภาพในการตรวจพบเซลล์ A_x ได้ดีในการใช้ร่วมกับโมโนโคลนัลแอนติ-เอ แอนติ-บี ในการตรวจหมู่โลหิต ABO

เมื่อนำแอนติบอดีที่ได้จากโคลน 18C₆, 16G₄ และ 18F₈ มาผสมกันเป็นโมโนโคลนัลแอนติ-เอ,บี ในอัตราส่วน 1/2:1:1 และนำมาทดสอบเปรียบเทียบกับโพลีโคลนัลแอนติ-เอ,บี และโมโนโคลนัลแอนติ-เอ,บี จาก 2 บริษัท พบว่าโมโนโคลนัลแอนติ-เอ,บี ที่เตรียมขึ้นให้ผลความแรงดีกว่าโพลีโคลนัลที่ศูนย์ผลิตอยู่และถึงแม้จะ

มีความแรงน้อยกว่าต่างประเทศเล็กน้อยแต่ก็ได้มาตรฐานตามท้องที่การอนามัยโลกกำหนด⁹ (ตารางที่ 3) แต่เมื่อทดสอบกับหมู่โลหิตย่อย A เช่น A_3 , A_x และหมู่โลหิตย่อย B เช่น B_3 , AB_{Hm} พบว่าจะตรวจหมู่โลหิตย่อยบางเซลล์ได้ดีกว่าโพลีโคลนัลและโมโนโคลนัลของต่างประเทศด้วย (ตารางที่ 4) เมื่อทดสอบความจำเพาะกับเซลล์หมู่โลหิต A, B, O, AB รวมทั้ง cord blood พบว่าโมโนโคลนัลแอนติ-เอ, บี มีความจำเพาะกับเซลล์ต่างๆ ดังกล่าว (ตารางที่ 5)

ดังนั้นการนำแอนติบอดีที่ได้จากโคลน $18C_6$, $16G_4$ และ $18F_8$ มาผสมกันเพื่อผลิตเป็นโมโนโคลนัลแอนติ-เอ, บี จึงเหมาะสมที่จะนำมาใช้แทนโพลีโคลนัลแอนติ-เอ, บี และใช้ร่วมกับโมโนโคลนัลแอนติ-เอ แอนติ-บี เพื่อใช้ในงานตรวจหมู่โลหิต ABO ได้เป็นอย่างดี¹⁰

เอกสารอ้างอิง

1. สร้อยสวางค์ พิกุลสด, รัชนี พลเทียร, ประภาศรี แก้วกิติโรจน์, อุดม ตั้งด้อย, จินตนา ทับรอด. การผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตโมโนโคลนัลแอนติ-เอ โดยใช้เทคนิคไฮบริโดมาของศูนย์บริการโลหิตฯ. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 1992; 4:373-81.
2. สร้อยสวางค์ พิกุลสด, รัชนี แก้วมงคล, กัญญ์ชลา อุทิศ, จินตนา ทับรอด. การผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย โดยใช้ไฮบริโดมาเทคนิค : I การเปรียบเทียบการกระตุ้นหนูทดลองในการผลิตแอนติ-บีด้วยปริมาณและชนิดของแอนติเจนต่างๆ. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 1991;1:299-307.
3. สร้อยสวางค์ พิกุลสด, รัชนี แก้วมงคล, กัญญ์ชลา อุทิศ, ประภาศรี แก้วกิติโรจน์, อุดม ตั้งด้อย, จินตนา ทับรอด. การผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย โดยใช้ไฮบริโดมาเทคนิค : II การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาตรวจหมู่โลหิตแอนติ-บี ชนิดโมโนโคลนัลแอนติบอดีเปรียบเทียบกับน้ำยาชนิดโมโนโคลนัลของต่างประเทศและน้ำยาชนิดโพลีโคลนัลของศูนย์บริการโลหิตฯ. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 1992;2:295-302.
4. Fazekas S, Groth St, et al. Production of monoclonal antibodies: Strategy and Tactics. J Immunolo Methods 1980;35:1-21.
5. Majdic O, Knapp W, Vetterlein M, et al. Hybridomas secreting monoclonal antibodies to human group A erythrocytes. Immunobiology 1979;156:226-7.
6. Vork D, Sack S, Alderson T, et al. Monoclonal anti-A from a hybrid myeloma: evaluation as a blood grouping reagent. Vox Sang 1981;39:134-40.
7. Sack S, Lennox E. Monoclonal anti-B as a new blood typing reagent. Vox Sang 1981;40:99-104.
8. Voak D, Lennox E, Sack S, Milstien C, Danborough J. Monoclonal anti-A and anti-B: development as cost-effective reagent. Med Lab Sci 1982;329:109-22.
9. WHO, Guidelines for the organization of a blood transfusion service: 1992.
10. McDonald DF, Thompson JM. A new monoclonal anti-A antibody BIRMA-1: a potent culture supernatant which agglutinate A_x cells, but does not give undesirable reaction with B cells. Vox Sang 1991;61: 53-8.

Production of Blood Grouping Monoclonal Anti-A, B Reagent Using Hybridoma Technigue

Rachanee Kaewmongkol, Udom Tingtoy, and Tasanee Sakuldamrongpanich

Department of Antiserum and Standard Cells Preparation, National Blood Center, Thai Red Cross Society

Abstract: The 18C₆ clone cell line is anti-A secreting cells which has been derived by fusing spleen cells of a mouse immunized by group A₁ and A₂B antigen with a mouse myeloma cell line (X 653.Ag 8). It was tested extensively in potency (titer) and specificity with blood group A₁ and subgroup A (A₂, A₂B, A₃, A₃B, and A_x cells). It was found to have high potency and specificity reaction with these cells, especially with weak subgroup A_x cell. However, it gave positive reaction with papainized B cell. Therefore, it isn't suitable for preparing monoclonal anti-A. The mixture of supernate from 18C₆ clone, anti-A secreting clone (16G₄) and anti-B secreting clone (18F₈) were made for monoclonal anti-A, B reagent. In comparison with polyclonal anti-A, B (NBC) and monoclonal anti-A, B (2 commercials), it was found that the monoclonal anti-A, B reagent (NBC) gave better results in avidity and potency than polyclonal anti-A, B (NBC) and was comparable to commercial monoclonal anti-A, B. Hence, it is suitable using this cocktail monoclonal anti-A, B to replace human polyclonal anti-A, B for routine ABO blood grouping reagent.

Key Words : ● Blood group ● Hybridoma

Thai J Hematol Transf Med 2000;10:175-81.

ZAVEDOS[®]

IDARUBICIN HCl

ZAVEDOS[®] OFFERS CLINICAL ADVANTAGES OVER DAUNORUBICIN IN AML PATIENTS

- Higher CR rates
- Greater CR after the 1st induction course
- Longer duration of remission
- Comparable safety profile

References

1. Berman, E., et al, *Blood*, 77(8), 1991; 1666-1674
2. Wiernik, P.H., et al, *Blood*, 79(2), 1992; pp. 313-319
3. Vogler, W.R., et al, *Journal of Clinical Oncology*, 10(7), 1992; pp. 1103-1111

For Medical Profession only.

Further information available on request.

Dispense in hospital only.

ใบอนุญาตเลขที่ มศ. 19/2542



Pharmacia & Upjohn