

rabbit -globulin conjugate. Results were compared with those of radioactive method. In healthy normal subjects, there is an increase of optical density (OD) in stimulated group of cell cultures which is significantly higher than unstimulated cell culture. When the results were tested for correlation among the values of OD, count per minute (cpm) and % blast cells of the two methods. The correlation coefficient (r-value) of 3 variable pairs; OD vs cpm, cpm vs % blast and OD vs % blast; were 0.990, 0.898 and 0.876, respectively, for stimulated group while the r-value for unstimulated group were 0.658, 0.417 and 0.190, respectively.

In conclusion, cell ELISA method described here is one of suitable alternative method for the determination of transformation, at least for screening purposes of CMI response in normals and immunodeficiency patients.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การตรวจสอบการเปลี่ยนรูปของลิ้มโฟซัยท์ โดยวิธีอีไลซ่า

ชื่อผู้เขียน นายเศกบุษย์ บัวดวง

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยา

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์:

รองศาสตราจารย์ ดร. สนิท มกรแก้วเกยูร ประธานกรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิชาญ วิชาศัย กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ประคอง วิชาศัย กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นีวัฒน์ มณีกาญจน์ กรรมการ

บทคัดย่อ

การตรวจสอบการเปลี่ยนรูปเป็นวิธีการหนึ่ง ที่ใช้ในการวัดหาการตอบสนองของเม็ดเลือดขาว เช่น ลิ้มโฟซัยท์ ต่อสิ่งกระตุ้นที่มีความจำเพาะ (specific antigens) และไม่จำเพาะ (non-specific mitogens) ต่อลิ้มโฟซัยท์ ถึงแม้ว่าการตรวจสอบการเปลี่ยนรูปนี้โดยวัดหาปริมาณของไทมิดินที่ติดฉลากด้วยสารรังสี (radiolabelled thymidine) ที่ถูกนำเข้าสู่เซลล์เพื่อการสังเคราะห์สารพันธุกรรมชนิดดีเอ็นเอ (Deoxyribonucleic Acid : DNA) จะเป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับและใช้กันทั่วไปในการตรวจหาการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ (Cell-Mediated Immunity : CMI) ในหลอดทดลอง การวัดปริมาณรังสีนี้เป็นวิธีการที่บ่งบอกถึงปริมาณของดีเอ็นเอที่ถูกสร้างขึ้นใหม่และวิธีนี้ก็มีความไว (sensitivity) สูง อย่างไรก็ตามเครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้สำหรับการตรวจสอบนี้ค่อนข้างจะมีราคาแพง อีกทั้งสารรังสีเองก็เป็นอันตรายต่อร่างกาย ในการศึกษานี้ได้นำเอาวิธี อีไลซ่า (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ; ELISA) มาใช้ตรวจสอบการเปลี่ยนรูปของลิ้มโฟซัยท์ในหลอดทดลองโดยใช้เซรุ่มที่มีแอนติบอดีต่อลิ้มโฟบลาสต์หลาย ๆ ชนิดรวมกัน (polyclonal antilymphoblast serum) การกระตุ้น peripheral blood mononuclear leukocytes (PBML) ด้วยสารกระตุ้นชนิดเลคติน (mitogenic lectin) จะชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมากทั้งในด้านรูปร่างและการทำงานของเซลล์ รวมถึงองค์ประกอบของผิวเซลล์ Antilymphoblast serum ถูกสร้างขึ้นในกระต่ายโดยใช้ลิ้มโฟบลาสต์ของคนที่เขาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนผสม 20 เปอร์เซ็นต์ของอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์ PBML ร่วมกับ concanavalin A PBML ที่จะทำให้การตรวจสอบจะกระตุ้นด้วยเลคตินชนิด phytohemagglutinin P (PHA-P) แล้วนำมาตรวจสอบการเปลี่ยนรูปโดยวิธีอีไลซ่า โดยวัดปริมาณความเข้มของสีที่เกิดขึ้น เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของการทดลอง

ระหว่างวิธีที่ใช้สารรังสีกับวิธีอไลสา ที่พัฒนาขึ้นในเซลล์ของกลุ่มคนปกติพบว่า เซลล์กลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วย PHA-P มีการเพิ่มขึ้นของความเข้มของสีประมาณ 2 เท่า และมีการสร้างดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นประมาณ 18 เท่า เมื่อเทียบกับกลุ่มเซลล์ที่ไม่ถูกกระตุ้น. เมื่อทำการหาความสัมพันธ์ของวิธีทั้งสอง โดยใช้ค่าความเข้มของสี ปริมาณสารที่ติดจลาจด้วยสารรังสีที่นำเข้าเซลล์ และเปอร์เซ็นต์ของเซลล์บลาสท์ พบว่าในกลุ่มของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นนั้นมีความสัมพันธ์กันอย่างดี โดยที่ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient ; r-value) ระหว่าง ความเข้มของสีกับปริมาณรังสี ปริมาณรังสีกับเปอร์เซ็นต์เซลล์บลาสท์ และความเข้มของสีกับเปอร์เซ็นต์เซลล์บลาสท์ เท่ากับ 0.990, 0.898 และ 0.876 ในกลุ่มของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นตามลำดับ ขณะที่ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของกลุ่มเซลล์ที่ไม่ถูกกระตุ้นเท่ากับ 0.658, 0.417 และ 0.190 ตามลำดับ กล่าวโดยสรุปจากวิธีการ cell ELISA ที่พัฒนาขึ้นในการศึกษานี้ เป็นวิธีการที่เหมาะสมวิธีหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ตรวจสอบการเปลี่ยนรูปของเซลล์ อย่างน้อยก็เป็นวิธีเบื้องต้นในการตรวจหาการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ (CMI response) ในคนปกติและผู้ป่วยที่มีความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved