บทความพิเศษ

การผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิต human monoclonal antibody ด้วยวิธี hybridoma technique

อุดม ติ่งต้อย
ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

บทนำ

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย มีหน้าที่จัดหาโลหิตและส่วนประกอบโลหิต ที่มีคุณภาพ เพียงพอและปลอดภัยให้กับผู้ป่วยทั่วประเทศ โลหิตบริจาคทุกยูนิตต้องได้รับการตรวจตรวจหาหมู่โลหิต เอบีโอ (ABO) และหมู่โลหิต Rh ตรวจกรองแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง (antibody screening) ตรวจแอนติบอดีที่จำเพาะ (antibody identification) กรณีตรวจกรองแอนติบอดีให้ผลบวก และตรวจคัดกรองหาการติดเชื้อโรคที่ถ่ายทอดทางโลหิต

ในการตรวจหมู่โลหิตต้องใช้น้ำยาที่ผลิตเองจากซีรัมผู้บริจาคโลหิตซึ่งเป็น polyclonal antibodies เช่น anti-A, anti-B แต่การผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตดังกล่าวเอง มีปริมาตรไม่เพียงพอต่อความต้องการ รวมทั้งน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิด Rh เช่น anti-D ต้องจัดซื้อจากต่างประเทศซึ่งมีราคาแพง จึงได้มีการศึกษาพัฒนาการผลิต monoclonal antibodies ด้วยวิธี hybridoma technique เพื่อใช้เป็นน้ำยาตรวจแอนติเจนหมู่โลหิตแทนได้สำเร็จ

ปี พ.ศ. 2518 George Kohler และ Caesar Milstein[1] ได้รายงานในวารสาร Nature เรื่องวิธีผลิต monoclonal antibody (MAb หรือ MoAb) โดยระบุว่าเซลล์ลูกผสมซึ่งเกิดจากการเชื่อมเซลล์ (hybridization) และผลิตแอนติบอดีจำเพาะสามารถเลี้ยงให้มีอายุยืนยาวได้ในหลอดทดลอง[2] ในปี พ.ศ. 2530 แพทย์หญิงสร้อยสองค์ พิกุลสด[3] และคณะทำงานของฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้นำหลักการดังกล่าวมาศึกษาค้นคว้าต่อยอดเพื่อผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิด monoclonal antibody ทดแทนน้ำยาตรวจหมู่โลหิตแบบเดิมซึ่งเป็นชนิด polyclonal antibody ที่เตรียมจากซีรัมผู้บริจาคโลหิต โดยเริ่มศึกษาและพัฒนาน้ำยาตรวจหมู่โลหิตในระบบ ABO จากการเพาะเลี้ยงเซลล์ด้วยวิธี hybridoma technique จนประสบความสำเร็จ สามารถผลิต MoAb anti-B[4] ได้ในปี พ.ศ. 2534 จากนั้นผลิตน้ำยาชนิดอื่นเพิ่มเติมขึ้น ได้แก่ MoAb anti-A[5,6], MoAb anti-D[7], MoAb anti-AB[8] และ MoAb anti-A_1[9] ตามลำดับ สามารถนำมาใช้ทดแทนน้ำยาที่เตรียมจากซีรัมผู้บริจาคโลหิตได้เป็นอย่างดี และยังสามารถผลิตจำหน่ายน้ำยาชนิดต่างๆ ให้หน่วยงานบริการโลหิตทั่วประเทศใช้เป็นต้นมา

ในปี พ.ศ. 2555 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้ร่วมมือกับสภากาชาดญี่ปุ่น (Japanese Red Cross Society) ผ่านโครงการพัฒนาการผลิต human และ murine monoclonal hybridoma ในการผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตที่หายาก และผลิต antihuman globulin serum ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้ส่งเจ้าหน้าที่ไปศึกษาอบรมแลกเปลี่ยนเรียนรู้ที่ Kanto-Koshinetsu Block Blood Center, Japanese Red Cross Society จำนวน 6 คน แบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 2 คน แต่ละกลุ่มอบรมในช่วงระยะเวลา 3 เดือน ตลอดระยะเวลา 3 ปี ตั้งแต่ 1 กันยายน พ.ศ. 2555 ถึง 30 พฤศจิกายน พ.ศ. 2557 เจ้าหน้าที่ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ ได้รับการฝึกอบรมเพื่อผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตที่หายากและประสบความสำเร็จสามารถผลิต human และ murine monoclonal antibodies ด้วยวิธี hybridoma techniques ได้

หลังจากฝึกอบรมดูงานผู้เขียนนำความรู้และทักษะปฏิบัติงานสำคัญที่ได้รับ ปฏิบัติงานอย่างทุ่มเทเพื่อผลิต monoclonal antibodies ชนิดต่างๆ ที่จำเป็นในการใช้งาน นับถึงปัจจุบันสามารถพัฒนาเซลล์ลูกผสมที่ผลิตแอนติบอดีหลายชนิดจากสองแหล่งสำคัญคือจากหนู (murine) ได้แก่ anti-C3d, anti-M[10] (IgM), anti-N[10], anti-H (IgM), anti-IgG และ anti-Ge4 และจากคน ได้แก่ anti-M (IgM)[11], anti-P1 (IgM)[12], anti-Le^{bH} (IgM), anti-D (IgM)[13], anti-E (IgM)[14], anti-I (IgM)[15], anti-MUT (IgM), anti-MUT (IgG), anti-Di^a (IgG), anti-Di^a (IgM) และยังมีแอนติบอดีต่อแอนติเจนของ rare blood group reagent อื่นๆ ซึ่งยังอยู่ในระหว่างการศึกษาและคาดว่าจะสามารถผลิตได้เพิ่มขึ้นในเร็วๆ นี้

บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อถ่ายทอดองค์ความรู้ เทคโนโลยี เทคนิคและแบ่งปันประสบการณ์จากการปฏิบัติงาน แก่ผู้สนใจเพื่อนำไปใช้ปฏิบัติและปรับปรุงพัฒนาต่อยอดในงานที่เกี่ยวข้องต่อไป

หลักการผลิต human monoclonal antibody

การผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิต human monoclonal antibodies ด้วยวิธี hybridoma technique เริ่มจากการแยกเฉพาะเม็ดเลือด

ขาวชนิด B-lymphocytes จากเลือดครบส่วน (whole blood) หรือจากชั้นเม็ดเลือดขาว (buffy coat) จากผู้บริจาคโลหิตหรือผู้ป่วยที่ทราบชนิดแอนติบอดี จากนั้นเปลี่ยนรูป (transform) B-lymphocytes ด้วย Epstein-Barr Virus (EBV) สายพันธุ์ B-958 (ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย) ทดสอบและคัดเลือกเซลล์ที่สร้างแอนติบอดีด้วยวิธี hemagglutination เชื่อมเซลล์ที่ให้ผลบวก (fusion) กับเซลล์มะเร็งสายพันธุ์ JMS-3 (Kanto-Koshinetsu Block Blood Center, Japanese Red Cross Society) ด้วย 50% polyethylene glycol (PEG) MW 1540 (Sigma. St. Louis. MO, USA) เลี้ยงเซลล์ลูกผสมให้เจริญแบ่งตัวด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์เฉพาะ จากนั้นเก็บน้ำเลี้ยงเซลล์ (culture supernatant) เพื่อทดสอบการสร้างแอนติบอดี คัดเลือกเฉพาะหลุมที่สร้างแอนติบอดีและ cloning ให้ได้เซลล์เดี่ยวและทดสอบการสร้างแอนติบอดีซ้ำ เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่าแอนติบอดีที่ตรวจพบมาจากเซลล์เดี่ยว นอกจากนี้ยังเป็นการกำจัดเซลล์ที่ไม่สร้างแอนติบอดีออกไปด้วย สุดท้ายเก็บแช่แข็งในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196 °C เพื่อเป็นเซลล์ต้นแบบ (master cells bank) สำหรับใช้งานในขั้นต่อไป

การเปลี่ยนรูป (transformation)[16,17]

เป็นการแยกเฉพาะเซลล์ชนิด B-lymphocytes และเปลี่ยนรูปเป็นเซลล์มะเร็ง สำหรับผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิต human monoclonal antibodies ด้วยวิธี hybridoma technique โดยนำเลือดครบส่วน (whole blood) หรือเม็ดเลือดขาว (buffy coat) (Figure 1) จากผู้บริจาคโลหิต หรือเลือดผู้ป่วย ซึ่งทราบชนิดแอนติบอดี และเก็บในสารกันเลือดแข็งชนิด citrate phosphate dextrose adenine (CPDA) แยกเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเซลล์เดี่ยว (mononuclear cells) ด้วย Ficoll hypaque for isolation human lymphocyte (Robbins Scientific, Norway) จากนั้นแยก T-lymphocytes ออก ด้วย sheep red blood cells (SRBC) ที่ treat ด้วย 2-(2-Aminoethyl) isothiourea dihydrobromide (AET) สุดท้ายได้ B-lymphocytes ซึ่งถูกเปลี่ยนรูป (transformation) ด้วย *EBV* ให้เป็นเซลล์มะเร็ง (Figure 2)

การคัดกรอง (screening)[18]

หลังจาก transformation ประมาณ 2-3 สัปดาห์ คัดกรองและเลือกเซลล์ซึ่งเปลี่ยนเป็นเซลล์มะเร็งที่เจริญเติบโต (Figure 3) อาหารเลี้ยงเซลล์เปลี่ยนสีจากแดงเป็นเหลือง ดูดเก็บน้ำเลี้ยงเซลล์เพื่อทดสอบด้วยวิธี hemagglutination โดยใช้เม็ดเลือดแดงที่มีแอนติเจนตรงกับแอนติบอดีที่นำมาเปลี่ยนรูป ความเข้มข้น 2% และคัดเลือกเซลล์ในหลุมที่สร้างแอนติบอดี โดยเลือกหลุมที่ให้ปฏิกิริยาผลบวกเก็บมารวมกันเพื่อทำการเชื่อมเซลล์ (cell fusion) ต่อไป

การเชื่อมเซลล์ (fusion)[16-18]

นำเซลล์มะเร็ง (myeloma cells) สายพันธุ์ JMS-3 ซึ่งเลี้ยงเซลล์ให้เจริญเติบโต โดยเลี้ยงไว้ไม่เกิน 3 วัน มาล้างด้วย RPMI

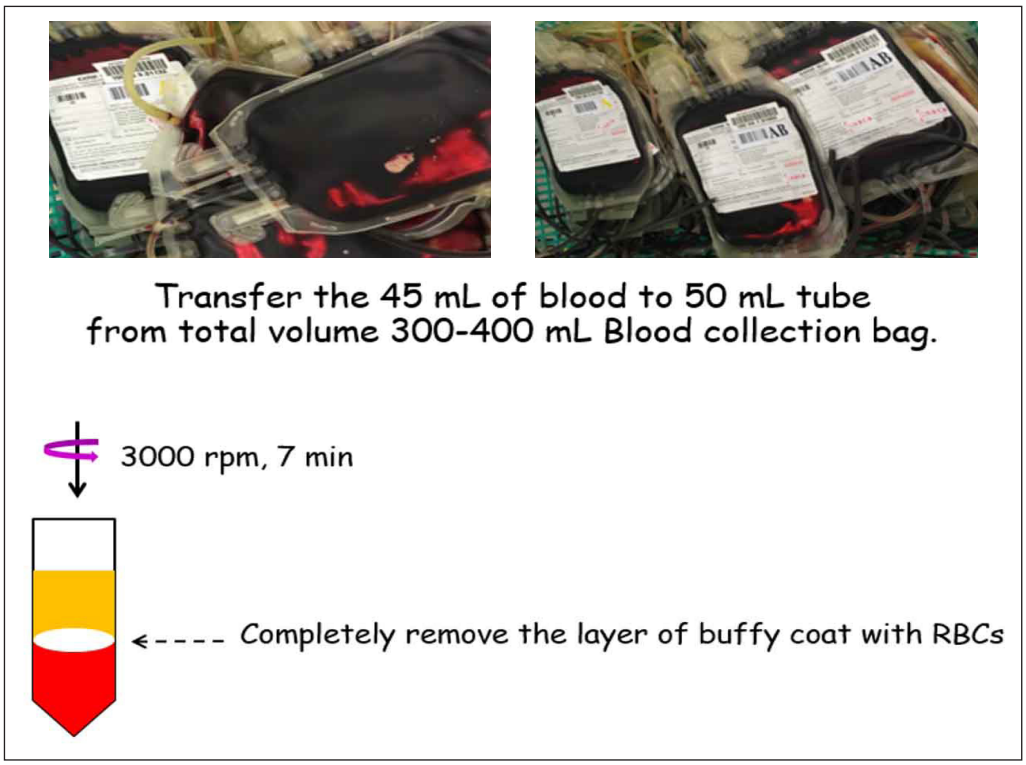

Figure 1 Transfer 45 mL of blood from blood collection bag to 50 mL tube

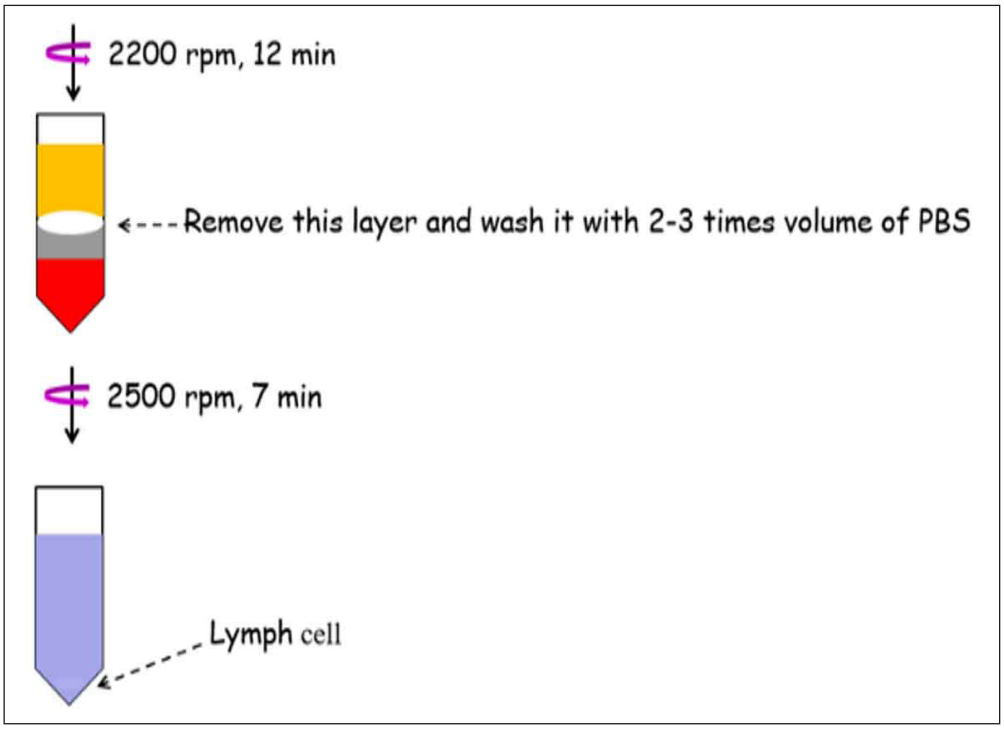

Figure 2 Remove Lymphocyte cells and wash with 2-3 volume of PBS

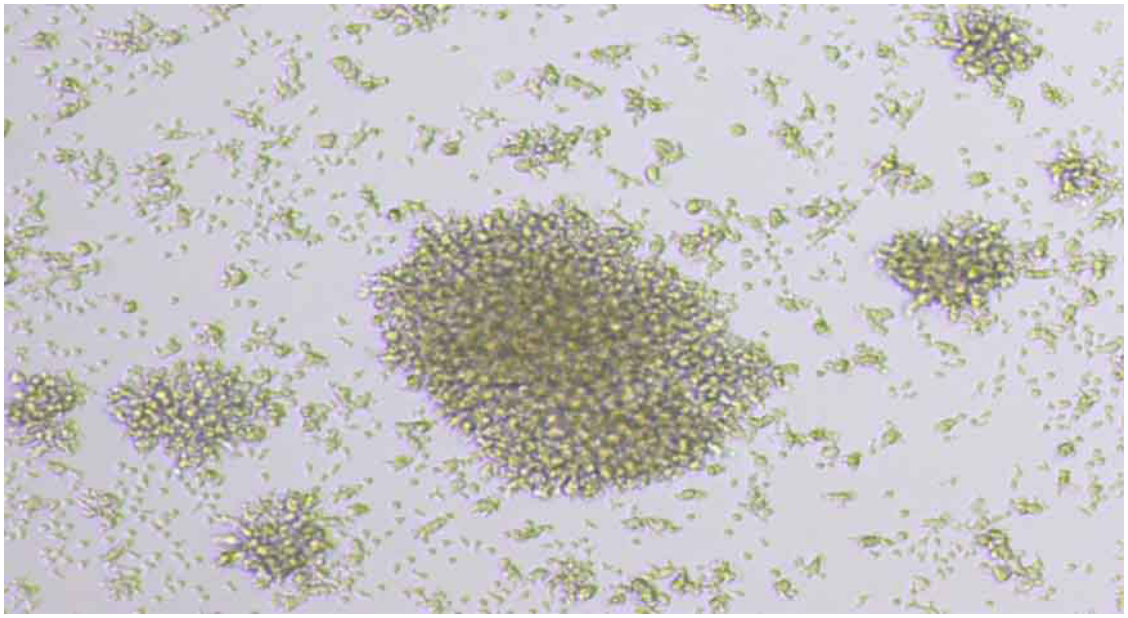

Figure 3 After 2-3 weeks of transformation, lymphocytes producing monoclonal antibodies are screened by hemagglutination testing

1640 แล้วนำ transformed cells ที่เลือกไว้มาล้างด้วย RPMI 1640 แล้วมารวมกัน ในอัตราส่วน 1:1 เชื่อมเซลล์ด้วย 50% PEG เติม 20% fetal bovine serum (FBS) in RPMI+ Hypoxanthine- Aminopterin-Thymidine (HAT)-Ouabain (5 x 10^{-7} M Ouabain) ซึ่งมีการทดสอบแล้วแล้วว่ามีประสิทธิภาพดีในการคัดเลือกเซลล์ hybridoma ดังแสดงใน Table 1 เพื่อคัดแยกเซลล์ลูกผสม (hybridoma cells)

การทดสอบและคัดเลือกเซลล์ (assay and cloning)

หลังจากเชื่อมเซลล์ประมาณ 7-14 วัน เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์ (cell culture supernatant) มาทดสอบการสร้างแอนติบอดี คัดเลือกเฉพาะหลุมที่สร้างแอนติบอดี จากนั้น cloning ด้วยวิธี limiting dilution โดยใช้ 96 well half area (Corning Incorporated, 2 Alfred Rd., ME, USA) เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่า เซลล์สายพันธุ์ที่สร้างแอนติบอดีเป็นเซลล์เดี่ยว (monoclone) และยังเป็นการกำจัด

Table 1 Verification test of HAT-Ouabain

Cells	HAT	HAT-Ouabain	20%FBS in RPMI
Human transformed cells	O	X	O
JMS-3 cells	X	X	O
Hybridoma cells	O	O	O

O, alive; X, die; HAT, Hypoxanthine-Aminopterin-Thymidine

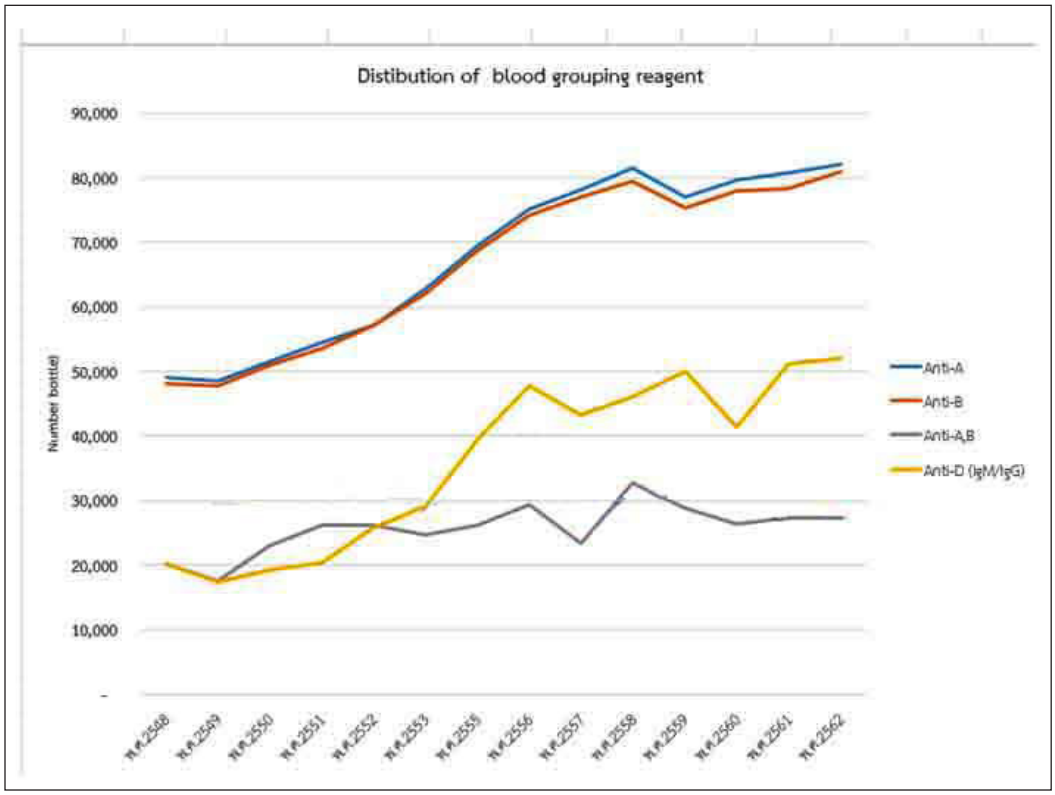

Figure 4 Number of distributed monoclonal antibody blood grouping reagent

เซลล์ที่ไม่สร้างแอนติบอดีออกไปด้วย สุดท้ายเก็บรักษาสายพันธุ์ที่มีความจำเพาะดังกล่าวโดยแช่แข็งในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196 °C สำหรับใช้เป็นเซลล์ต้นแบบ (master cells bank) ต่อไป

การเลี้ยงขยายเพิ่มจำนวนเพื่อการผลิต (establishment and mass culturing)

คัดเลือกเซลล์สายพันธุ์ที่ดีที่สุด จากการทำ limiting dilution เลี้ยงขยายใน 96 well culture plate เลี้ยงขยายเซลล์สายพันธุ์ในขวดเลี้ยงเซลล์จากขนาด 25 cm^3TCF เป็นขนาด 75 cm^3TCF และ 175 cm^3TCF (Thermo Fisher Scientific Nunc, DK, Denmark) ตามลำดับ ให้ได้ปริมาณเพียงพอตามต้องการ ปล่อยให้เซลล์เจริญเติบโตและผลิตแอนติบอดีในอาหารเลี้ยงเซลล์ เมื่อสังเกตเห็นเซลล์ตาย $\geq$ 95% (ประมาณ 2 สัปดาห์) เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์ (cell culture supernatant) มาทดสอบหาความแรงของแอนติบอดี หากความแรงของแอนติบอดีได้ตามที่กำหนด เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์เป็น stock raw material สำหรับใช้ผลิตเป็นน้ำยาตรวจหมู่โลหิต human monoclonal antibodies ในกรณีที่ความแรงของแอนติบอดีต่ำไม่เป็นไปตามกำหนด นำไปทำให้เข้มข้นขึ้นโดยวิธี ultrafiltration concentration เพื่อเพิ่มความความแรงของแอนติบอดีให้ได้ตามต้องการ และเก็บเป็น stock raw material ในการนำมาผลิตเป็นน้ำยาตรวจหมู่โลหิตต่อไป

การดำเนินงานในปัจจุบัน

ปัจจุบันการพัฒนาวิธีการผลิต MoAb ด้วยวิธี hybridoma technique ประสบความสำเร็จทำให้ได้เซลล์สายพันธุ์ใหม่ สามารถผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดต่างๆ มาใช้ทดแทนการเตรียมน้ำยาตรวจหมู่โลหิตจากวิธีเดิม MoAb ชนิดต่างๆ ที่ผลิตได้มีคุณภาพดี และมีราคาถูก เป็นที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในธนาคารเลือดและโรงพยาบาลต่างๆ ทั่วประเทศ ดังแสดงให้เห็นได้จากสถิติการจ่ายน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดต่างๆ ให้แก่โรงพยาบาลและธนาคารเลือดเพิ่มขึ้นทุกปี (Figure 4)

ผลสัมฤทธิ์ของพลวัตและนวัตกรรมการผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

กล่าวได้ว่า น้ำยาที่ผลิตขึ้นนี้เป็นผลสัมฤทธิ์ของการนำนวัตกรรมมาใช้และพัฒนา อย่างต่อเนื่องอย่างเป็นรูปธรรม จนได้น้ำยาที่มีคุณภาพดีเป็นที่ยอมรับ ราคาต่ำกว่าน้ำยาที่นำเข้าจากต่างประเทศ และเป็นที่ต้องการและใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วประเทศ โดยสามารถวัดผลสัมฤทธิ์ได้จากผลการดำเนินงานการจ่ายน้ำยาตรวจหมู่โลหิตโมโนโคลนัล แอนติบอดีชนิดต่างๆ ได้แก่ anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D, anti-A_1, anti-E, anti-c, anti-M, anti-N, anti-H และ anti-P1 ที่มีปริมาณสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง สำหรับใช้งานทั้งที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย และจำหน่ายให้แก่สถานพยาบาลและธนาคารเลือดทั่วประเทศ และเมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติต่างๆ ของน้ำยาตรวจหมู่โลหิตที่เป็น monoclonal antibodies ซึ่งผลิตด้วยวิธี hybridoma กับน้ำยาตรวจหมู่โลหิตที่เตรียมจากซีรัมผู้บริจาคซึ่งเป็น polyclonal antibodies พบว่า monoclonal antibodies มีคุณสมบัติและประสิทธิภาพสูงกว่าในทุกมิติ ได้แก่ มีความจำเพาะและความแรงสูงกว่า และสามารถผลิตได้ตามความต้องการเป็นการแก้ปัญหา การขาดแคลน เป็นต้น ดังแสดงใน Table 2

ผลลัพธ์ต่อผู้รับบริการ

ผู้รับบริการได้ใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีเทียบเท่าหรือดีกว่าผลิตภัณฑ์นำเข้าจากต่างประเทศในราคาที่ต่ำกว่า และจากการเฝ้าระวังติดตามตัวชี้วัดของวัตถุประสงค์คุณภาพ (monitoring plan for KPI of quality objective) ของการผลิตและจ่ายน้ำยาตรวจหมู่โลหิตที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดและไม่ได้มาตรฐาน โดยมีเกณฑ์การวัด (passing criteria) คือ ต้องมีความผิดพลาดได้ไม่เกิน 0.01 เปอร์เซ็นต์ โดยมีการสำรวจทุก 6 เดือน พบว่าผ่านการประเมิน และจากการสำรวจความพึงพอใจของลูกค้า พบมีความพึงพอใจมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D, anti-A_1, anti-E, anti-c, anti-M, anti-N, anti-H และ anti-P1 ชนิด monoclonal antibody ที่ผลิตขึ้นเป็นที่ยอมรับและน่าเชื่อถือ

การผลิต monoclonal antibody ทำให้เกิดประโยชน์ ดังต่อไปนี้

1. มีความปลอดภัยได้มาตรฐานสากล

เนื่องจากมาตรฐานขั้นพื้นฐานของงานธนาคารเลือดทั่วโลกกำหนดไว้ว่า โลหิตทุกยูนิตที่ได้รับบริจาคต้องมีการตรวจหมู่โลหิตก่อนที่จะจ่ายออกไปให้โรงพยาบาลต่างๆ รวมทั้งผู้ป่วยทุกรายที่ต้องการ

Table 2 Comparison of polyclonal antibodies and monoclonal antibodies[19,20]

	Polyclonal antibodies	Monoclonal antibodies
Advantages	1. Inexpensive to produce 2. High affinity 3. React to multiple epitopes (generally provides more robust detection) 4. Polyclonal antibodies are often preferred for detection of denatured proteins 5. Binding ability tends to be unaffected by fixation or denaturation of the antigen, because multiple different antibody molecules are present. High tolerance for differences in antigen (i.e. glycosylation of proteins)	1. Constant and renewable source 2. Consistency between lot 3. Less background relative to polyclonal antibodies 4. Homogeneity ensures reproducible results 5. Specificity of monoclonal antibodies make them extremely efficient for binding of antigen with a mixture of related molecules
Disadvantages	1. Prone to batch to batch variability 2. They produce large amounts of non-specific antibodies which can result in a background signal in some applications 3. Multiple epitopes make it important to check for cross reactivity	1. Binding ability may be lost if the epitope is lost by fixation or denaturation of the antigen, because monoclonal antibodies are homogeneous. Monoclonal antibodies may be too specific, react to a single epitope (e.g. less likely to detect across a range of species) 2. Cover only one epitope

Table 3 Number of product distribution to hospitals and medical institutions and selling price comparison

Blood grouping reagents monoclonal antibody	Number of distribution (bottle) Fiscal year 2560	2561	2562	Price (NBC) (Baht)	Price (commercial) (Baht)
Anti-A (Murine MoAb) (10 mL)	79,641	80,662	81,974	80	270-400
Anti-B (Murine MoAb) (10 mL)	77,959	78,279	80,964	80	270-400
Anti-A,B (Murine MoAb) (10 mL)	26,345	27,341	27,345	80	320-450
Anti-D (IgM/IgG) (Murine MoAb) (10 mL)	41,376	51,138	52,058	200	500-900
Anti-A_1 (Murine MoAb) (10 mL)	743	608	807	200	1,600 (Lectin 5 mL)
Anti-H (Murine MoAb) (10 mL)	509	419	510	200	1,000 (Lectin 5 mL)
Anti-M (Murine MoAb) (10 mL)	442	688	578	100	4,000-7,000 (2 mL)
Anti-N (Murine MoAb) (10 mL)	364	603	493	100	4,000-7,000 (2 mL)
Anti-E (Human MoAb) (5 mL)	2,006	1,945	2,344	500	4,000-5,000
Anti-c (Human MoAb) (5 mL)	1,485	1,494	1,934	500	4,000-5,000
Anti-P1 (Human MoAb) (5 mL)	0	192	422	2,000	4,500-10,000 (1 mL)

NBC = National Blood Centre

ใช้โลหิตเพื่อการรักษาทุกครั้งต้องได้รับการตรวจหมู่โลหิตก่อนเช่นเดียวกันเพื่อความปลอดภัย ดังนั้นการใช้น้ำยา MoAb ที่ผลิตมีคุณภาพดี สามารถให้ผลการทดสอบถูกต้องและแม่นยำ จึงเกิดความปลอดภัยแก่ผู้ป่วยที่ได้รับโลหิต

2. ช่วยให้ประเทศชาติประหยัดค่าใช้จ่าย

เนื่องจากเป็นแหล่งผลิตเพียงแห่งเดียวในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จึงเป็นความภาคภูมิใจของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ในการช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายให้แก่ประเทศชาติ และศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ปีละไม่น้อยกว่า 8-10 ล้านบาท ดังแสดงใน Table 3 หากเปรียบเทียบกับการซื้อน้ำยาที่นำเข้าจากต่างประเทศ

3. มีน้ำยาตรวจหมู่โลหิตเพียงพอตามความต้องการ

เนื่องจากความความต้องการของผู้รับบริการ ได้แก่ สถานพยาบาลต่างๆ ทั่วประเทศไทย ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย และภาคบริการโลหิตแห่งชาติต่างๆ ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย มีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปี เมื่อพิจารณาจากสถิติจ่ายน้ำยาตรวจหมู่โลหิตที่ผ่านมา ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 ถึงปัจจุบัน แสดงให้เห็นว่าศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย สามารถผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตได้เพียงพอตามความต้องการของผู้รับบริการ

สรุป

นอกจากการผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดต่างๆ ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย มีแผนงานในอนาคต คือ การดำเนินการศึกษาค้นคว้าและผลิตเซลล์สายพันธุ์สำหรับผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดหายากและมีความจำเป็นสำหรับใช้คัดกรองโลหิตก่อนให้เลือด เช่น เซลล์สายพันธุ์ที่สร้าง anti-e, anti-c, anti-K และ anti-S เป็นต้น เนื่องจากน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดหายากที่นำเข้าจากต่างประเทศมีราคาแพงมากในท้องตลาด ดังนั้นหากได้เซลล์สายพันธุ์สำหรับผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดหายากจะเป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ในการที่จะมีน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดหายากซึ่งมีราคาถูก คุณภาพดี และลดค่าใช้จ่ายให้กับศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย เป็นการประหยัดงบประมาณของประเทศ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณแพทย์หญิงสร้อยสอางค์ พิกุลสด อดีตผู้อำนวยการศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ผู้เสนอโครงการ Dr. Kenji Tadodoro อดีต Chief Executive Officer Blood Service Headquarters ผู้รับประสานงาน Dr. Itaru Nishimoto อดีต Chief Executive Officer Blood Service Headquarters ผู้อนุมัติโครงการ Dr. Makoto Uchikawa และ Ms. Chizu Toyoda ผู้ฝึกสอนที่ Kanto-Koshinetsu Block Blood Center, Japanese Red Cross Society และเดินทางมาถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ ที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย รวมทั้งทีมงานเจ้าหน้าที่ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ที่ร่วมมือในการปฏิบัติการผลิตจนบรรลุผลสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

1. *Kohler G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibodies of predefined specificity. Nature. 1975;256:495-7.*
2. *Udom Tingtoy. A review: monoclonal antisera for blood group serology. J Hematol Transfus Med. 2011;21:103-12.*
3. *Phikulsod S, Potien R, Uthid K, Tubrod J. Monoclonal blood grouping reagent prepared by National Blood Centre, Thai Red Cross Society: I mouse response to immunization with different quantity and sources of B antigens. Thai J Hematol Transfus Med. 1991;1:299-307.*
4. *Phikulsod S, Potien R, Uthid K, Kaewkitiroj P, Tingtoy U, Tubrod J. Monoclonal blood grouping reagent prepared by National Blood Centre, Thai Red Cross Society: II the study of the efficacy of the monoclonal anti-B compared with commercial monoclonal reagents and conventional polyclonal anti-B. Thai J Hematol Transfus Med. 1992;2:295-302.*
5. *Phikulsod S, Potien R, Kaewkitiroj P, Uthid K, Tingtoy U, Tubrod J. Monoclonal anti-A reagent using hybridoma technique prepared by National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Thai J Hematol Transfus Med. 1992;2:373-81.*
6. *Tingtoy U, Phonimit S, Siripongsanusit, Makechay S, Sakuldamrongpanich T. Development of monoclonal anti-A production of National Blood Centre, Thai Red Cross Society. J Hematol Transfus Med. 2008;18:11-9.*
7. *Sakuldamrongpanich T, Tubrod J, Saengkla S, Tingtoy U. Evaluation of anti-D reagent as Rh(D) blood typing. Thai J Hematol Transfus Med. 1999;9:39-48.*
8. *Kaewmongkol R, Tingtoy U, Sakuldamrongpanich T. Production of blood grouping monoclonal anti-A, B reagent. Thai J Hematol Transfus Med. 2000;10:175-81.*
9. *Tingtoy U, Sakuldamrongpanich T, Kaewmongkol R. Production of monoclonal anti-A_1 blood groupreagent by National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Thai J Hematol Transfus Med. 2001;11:21-8.*
10. *Kirdkaewgam K, Ponsen S, Phonimit S, Tingtoy U, Phikulsod S. Generating the hybridoma cell line by murinemonoclonal hybridoma technology for producing anti-M and anti-N blood group phenotyping reagent. J Hematol Transfus Med. 2014;24:361-9.*
11. *Boonhai S, Aiemumpron K, Tingtoy U. Production of a new anti-M monoclonal reagent using human hybridoma tecthnology. Chula Med J. 2016;60:101-13.*
12. *Tingtoy U, Makechay S, Deesin P, Tubrod J. Production of human monoclonal anti-P1 by using hybridoma tchnique. J Hematol Transfus Med. 2017;27:11-8.*
13. *Ponsen S, Phonimit S, Premprayoon N, Tingtoy U. Production of anti-D human monoclonal antibody (IgM) using human monoclonal hybridoma technique. Chula Med Bull. 2019;2:147-54.*
14. *Ponsen S, Phonimit S, Premprayoon N, Kerdkaewngam, Tingtoy U. Production of human hybridoma secreting monoclonal antibody against Rh(E) antigen. J Hematol Transfus Med. 2019;29:83-90.*
15. *Tingtoy U, Aiemumporn K, Tubrod J. Characteristics of anti-I clone 1G6 properties produced by human hybridoma technique. J Hematol Transfus Med. 2019;29:289-96.*
16. *Peters JH. Principles of cell hybridization. In: Peters JH, Baumgarten H, editors. Monoclonal antibodies. Germany: Springer-Verlag Bertin Heidelberg; 1992. p. 1-4.*
17. *Baron D. Human hybridoma technique. In: JH Peters, H Baumgarten, editors. Monoclonal antibodies. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 1992. p. 157-63.*
18. *Reid ME, Francis CL, Olsson ML. The blood group antigen: FactsBook. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier; 2012.*
19. *MBL International Corporation, a JSR Life Science Company. How to select antibodies: Difference between polyclonal antibodies and monoclonal antibodies. [Internet]. 2020. [Cited on May 2020]; Available from: https://www.mblintl.com/products/how-select-antibodies-mbli/.*
20. *nanoComposix, Antibody selection and purification for lateral flow rapid tests. Monoclonal vs. polyclonal antibodies. [Internet]. 2020. [Cited on 17 May 2020]; Available from: https://nanocomposix.com/pages/antibody-selection-and-purification-for-lateral-flow-rapid-tests#target.*