

Thesis Title Study of Malaria Antigens (Plasmodium falciparum) Obtained from the In Vitro Cultivation.

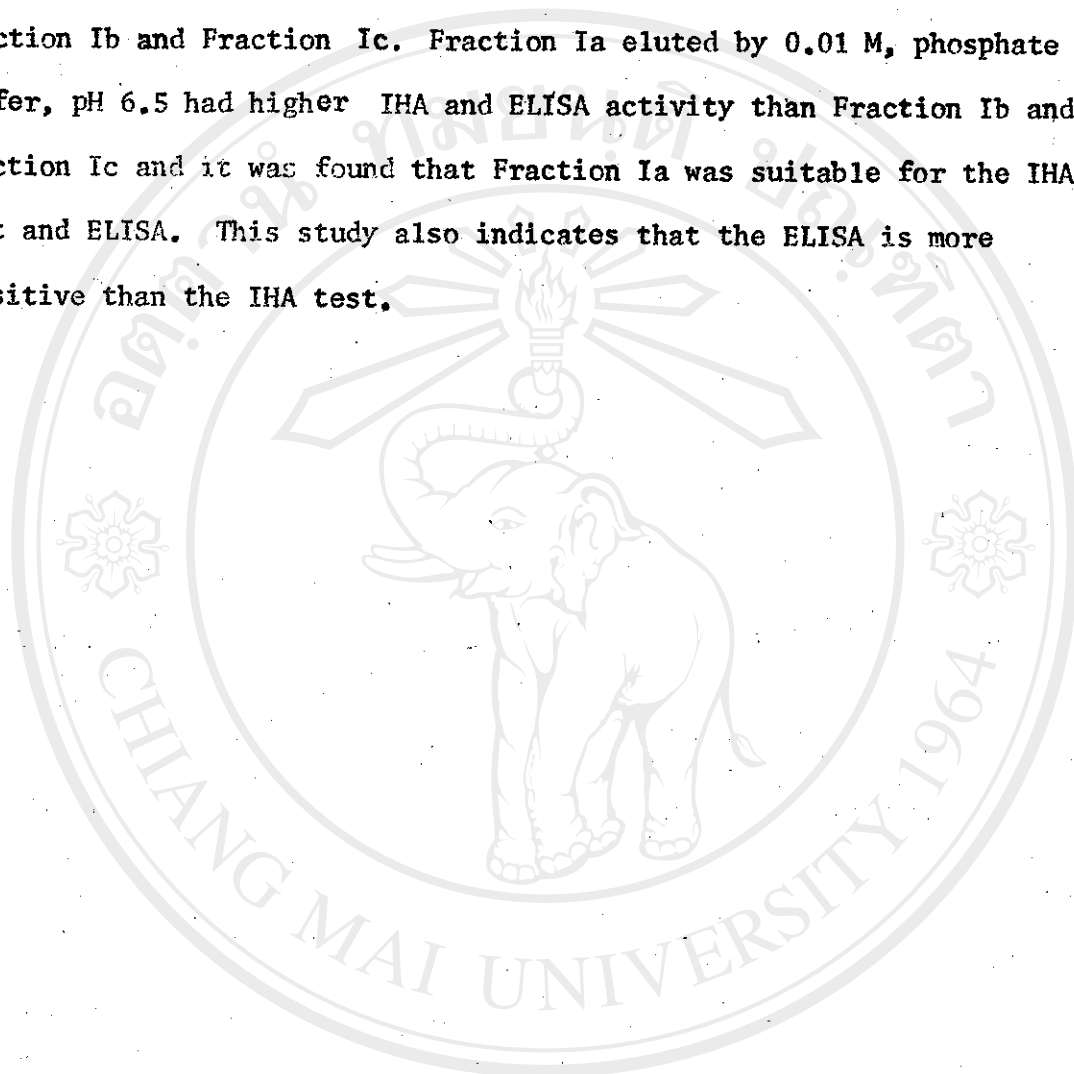
Name Mr. Pongsuwan Srisuwan

Thesis For Master of Science in Parasitology
Chiang Mai University 1982.

ABSTRACT

In vitro cultivation of Plasmodium falciparum from patients was done by the modified candle jar method of Jensen and Trager (1977). The mature parasites obtained from the culture (trophozoites and schizonts) were concentrated and isolated from the young parasites (ring forms) and non infected erythrocytes by centrifugation of the cell suspensions at 33g for 15 minutes in 5% Ficoll solutions. Crude antigen was prepared from the concentrated mature parasites with parasitemia about 40%. The antigenic activity of crude antigen was tested by the indirect haemagglutination (IHA) test and the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The crude antigen was fractionated by passage through a Sephadex-G 200 column; three pooled fractions were obtained and designated as Fraction I, Fraction II and Fraction III. It was found that Fraction I had the greatest IHA and ELISA activity. Fraction I was further purified by passage through a CM-cellulose column, eluted by phosphate buffer of varying concentration and pH in

linear gradient between 0.01M, pH 6.5 and 0.06 M, pH 8.5. The other three pooled fractions were obtained and designated as Fraction Ia, Fraction Ib and Fraction Ic. Fraction Ia eluted by 0.01 M, phosphate buffer, pH 6.5 had higher IHA and ELISA activity than Fraction Ib and Fraction Ic and it was found that Fraction Ia was suitable for the IHA test and ELISA. This study also indicates that the ELISA is more sensitive than the IHA test.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การศึกษามาเลเรียแอนติเจน (พลาสโมเดียม
ฟัลซิพารัม) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง

ชื่อผู้เขียน

นายพงษ์สุวรรณ ศิริสุวรรณ

วิทยานิพนธ์

วิทยาลัยการศึกษามหาวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2525

บทคัดย่อ

นำเชื้อมาเลเรียชนิดฟัลซิพารัมที่ได้จากผู้ป่วยมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (In vitro cultivation) โดยวิธี The candle jar method ของ Jensen และ Trager (1977) เชื้อระยะ trophozoite และ schizont (mature parasites) แยกออกจากเชื้อระยะ ring form และเม็ดเลือดที่ไม่มีเชื้อ โดยขึ้นที่ 33g ใน 5% Ficoll solution เป็นเวลา 15 นาที นำ mature parasites ซึ่งมีความ parasitemia ประมาณ 40% มาเตรียมเป็น crude antigen แล้วทดสอบหา antigenic activity โดยวิธี indirect haemagglutination (IHA) และ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) พบว่า crude antigen มีความ antigenic activity (กล่าวคือ เมื่อทดสอบด้วยวิธีทั้งสองดังกล่าว วิธีทดสอบทั้งสองให้ผลบวกต่อน้ำเหลืองของผู้ป่วยที่เป็นโรคไข้จับสั่นชนิดฟัลซิพารัม) crude antigen ได้ถูกแยกออกเป็น 3 fraction ใหญ่ ๆ เมื่อผ่านใน Sephadex-G200 column ได้แก่ Fraction I Fraction II และ Fraction III พบว่า Fraction I มีความ antigenic activity มากที่สุด เมื่อทดสอบด้วยวิธีทั้งสองดังกล่าว Fraction I ถูกนำมาแยกต่อเพื่อทำให้บริสุทธิ์มากขึ้น โดยผ่านใน CM-cellulose column ซึ่งใช้ phosphate buffer เป็น eluant โดยเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นและความเป็นกรดต่าง (pH) แบบ linear gradient ตั้งแต่ 0.01 M, pH 6.5 ถึง 0.06 M, pH 8.5 พบว่า Fraction I ยังถูกแยกออกเป็น 3

fraction ใหญ่ ๆ คือ Fraction Ia Ib และ Ic Fraction Ia ถูกแยกออกมาที่ความเข้มข้นของ phosphate buffer เป็น 0.01 M และ pH เป็น 6.5 สำหรับ Fraction Ib และ Ic แยกออกมาที่ความเข้มข้นและ pH ที่สูงกว่าตามลำดับ จากการทดสอบหา antigenic activity พบว่า Fraction Ia มี antigenic activity มากกว่า Fraction Ib Fraction Ic และมากกว่า Fraction I และ crude antigen ด้วยสรุปได้ว่า Fraction Ia มี antigen ที่เหมาะสมสำหรับ IHA test และ ELISA เมื่อเปรียบเทียบกับ crude antigen และ antigenic fraction ของ crude antigen ซึ่งแยกโดย Sephadex-G200 column การศึกษาวิจัยสนับสนุนถึงข้อสังเกตที่ว่า sensitivity ของ ELISA สูงกว่า IHA test.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved