

Detection of GAD65 autoantibodies of type-1 diabetes using anti-GAD65-abs reagent produced from bovine brain tissue

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=105729&lokasi=lokal>

Abstrak

Secara klinis, diabetes tipe 1 (DM 1) mungkin tampak seperti diabetes tipe 2 dan kedua hal tersebut seringkali sulit untuk dibedakan. Hanya pemeriksaan petanda autoimun kerusakan sel β ; yang dapat membedakan kedua keadaan klinis tersebut. Karena harganya yang amat mahal (\pm \$150/pemeriksaan), pemeriksaan anti-GAD65-abs tidak dapat dilakukan secara rutin di sebagian besar atau bahkan di semua laboratorium di Indonesia. Oleh sebab itu, produksi reagen anti GAD65-Abs di Indonesia mungkin dapat mengurangi biaya dan meningkatkan kualitas pelayanan diabetes di Indonesia. Kami membuat reagen untuk mendeteksi anti-GAD65-Abs dengan memanfaatkan otak sapi sebagai sumber enzim dalam 3 tahap. Tahap 1, mengisolasi dan memurnikan enzim GAD65 dari jaringan otak sapi, mengenali sifat-sifat fisika dan kimiawi, dan menggunakannya sebagai antigen primer untuk menstimulasi pembentukan anti-GAD65 di tikus Wistar. Tahap 2, memurnikan dan menggunakan anti-GAD65 hasil pemurnian sebagai antibodi sekunder untuk menginduksi pembentukan anti-antibodi-GAD65 pada tikus Wistar dan kelinci. Tahap 3, memberi label fosfatase alkali dan peroksidase pada anti-antibodi-GAD65 dan menggunakannya untuk mengenali anti-GAD65-Abs diabetes tipe 1 yang sebelumnya telah diidentifikasi dengan menggunakan “kit” komersial. Reagen anti-antibodi-GAD65 yang diproduksi di laboratorium kami dapat mengenali anti-GAD65-abs yang sebelumnya telah dideteksi oleh “kit” komersial. (Med J Indones 2005; 14: 197-203)

Clinically, type 1 diabetes may presents as type 2 diabetes which sometimes not easily differentiated. Perhaps only autoimmune markers of b-cells destruction could differentiate those two clinical conditions. Due to extremely high cost (\$ 150/test), examination of anti-glutamic acid decarboxylase-65 auto-antibodies (anti-GAD65Abs) may not be routinely performed in most, if not all, clinical laboratories in Indonesia. Hence, the production of anti-GAD65 Abs reagent in Indonesia may reduce the cost and improve the quality of diabetes care in Indonesia. We produce reagent to detect anti-GAD65-Abs using bovine brain tissue as source of GAD enzyme in 3 steps. Step 1, isolation, purification of GAD65 from bovine brain tissue and used it as a primary antigen to stimulate the generation of anti-GAD65 antibodies in Wistar rat. Step 2, the purified GAD65 antibodies were than used as a secondary antibody to induce the production of anti-anti-GAD65-antibodies in Wistar rat and rabbit. Step 3. Labeling anti-antiGAD65-antibodies with alkaline phosphatase and peroxidase, and detecting anti-GAD65Abs previously detected using commercial kit. The anti-anti-GAD65-antibodies reagent produced in our laboratories successfully identify anti-GAD65-Abs of type 1 diabetic patients previously detected with commercial reagent. (Med J Indones 2005; 14: 197-203)