

Pembuatan antibodi monoklonal terhadap imunoglobulin M (IgM) manusia

Agustin Indrawati

Deskripsi Dokumen: <http://lib.ui.ac.id/opac/themes/libri2/detail.jsp?id=76868&lokasi=lokal>

Abstrak

Ruang lingkup dan cara penelitian : Adanya imunoglobulin M (IgM) pada serum merupakan salah satu tanda terjadinya suatu infeksi awal, sehingga dengan ditemukannya suatu bahan metode yang bisa mendeteksi adanya IgM secara tepat dan cepat, penyakit dapat segera terdeteksi. Pada penelitian ini ,dicoba membuat antibodi monoklonal terhadap IgM manusia dengan cara memfusi sel splenosit mencit imun dengan sel mieloma NS1 yang dibantu dengan fusogen Poly Ethylene Glycol 4000,50%. Hasil fusi kemudian didistribusikan kedalam pelat mikrotiter dan sel hibrid diseleksi dengan menggunakan medium Hypoxantine, Aminopterin , Tymidine. Setelah terbentuk koloni sel hibrid kemudian dilakukan penapisan antibodi dengan cara ELISA dengan IgM manusia sebagai antigen. Sel hibrid dengan nilai optical density tinggi dilakukan kloning dan subkloning .

Hasil dari subkloning dengan nilai OD tinggi dilakukan uji reaksi silang dengan imunoglobulin lain yaitu IgG, IgA dan serum minus IgG, IgM dan IgA. Untuk menguji ada tidaknya reaksi silang dengan imunoglobulin lain pembuktian adanya reaksi silang dilakukan uji kompetitif dan uji dengan menggunakan berbagai konsentrasi dari IgG,IgM dan IgA. Uji lain yang dilakukan adalah uji untuk menentukan klas dan subklas dari antibodi monoklonal yang dihasilkan.

Hasil : Sel splenosit yang digunakan untuk fusi adalah $1,2 \times 10^8$ dan 3×10^7 sel mieloma dengan perbandingan 1 : 4. Dari 576 sumur pelat mikrotiter didapatkan pada 333 sumur tumbuh koloni sel hibrid, 93 sumur tidak terdapat koloni dan 150 sumur kontaminasi. Setelah dilakukan penapisan antibodi, koloni sel hibrid dengan nilai OD tinggi disubkloning dan diambil 5 untuk disubkloning kembali. Dan 5 klon awal tersebut diambil 8 klon dengan nilai OD tinggi untuk uji reaksi silang. Dari kedelapan klon tersebut setelah diuji reaksi silang masih mengenali IgG dan IgA, kemudian diuji dengan uji kompetitif dan uji dengan berbagai konsentrasi. Dari kedua uji tersebut, kedelapan klon menunjukkan tidak adanya reaksi silang dengan imunoglobulin lain yaitu IgG, IgA dan serum minus. Pada uji penentuan klas dan subklas diperoleh hasil 6 klon merupakan klas dan subklas IgG2a dan 2 klon tidak diidentifikasi.

Kesimpulan : Diperoleh 8 klon yang spesifik terhadap imunoglobulin M manusia. Dan kedelapan klon tersebut 6 klon merupakan klas dan subklas IgG2a dan 2 klon tidak diidentifikasi. Untuk mendapatkan hasil

yang memuaskan perlu dilakukan pengujian terhadap rantai ringan dari 1gM dan dilakukan tahap produksi dan pemurnian.

