

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Biotieteiden laitos		Biokemian osasto	
Tekijä — Författare			
Marjatta Hirvonen			
Työn nimi — Arbets titel			
Determination of low concentrations of immunoglobulin A (IgA) and anti-IgA (Matalien IgA-pitoisuuksien ja IgA-vasta-aineiden määrittäminen)			
Oppiaine — Läroämne			
Biokemia			
Työn laji — Arbets art		Aika — Datum	Sivumäärä — Sidoantal
Lisensiaattitutkielma		16.3.1995	42 + 15
Tiivistelmä — Referat			
<p>Selektiivinen immunoglobuliini A:n (IgA) puutos (seerumin IgA-pitoisuus alle 50 µg/L) on yleisin primaarinen immunoglobuliinipuutos (Suomessa noin 1/500). Noin kolmasosalla henkilöistä, joilla on IgA-puutos, on vasta-aineita IgA:a kohtaan. Nämä vasta-aineet saattavat aiheuttaa vaikean anafylaktisen reaktion, kun potilaalle annetaan IgA:a sisältäviä veri- tai plasmatuotteita.</p> <p>Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli kehittää herkkä entsyymi-immunologinen menetelmä (EIA) matalien IgA-pitoisuuksien määrittämiselle seerumista, pestyistä punasolu- ja trombosyyttivalmisteista sekä immunoglobuliinivalmisteista. Lisäksi oli tarkoituksena kehittää spesifinen entsyymi-immunologinen menetelmä IgA-vasta-aineiden toteamiselle ja tason seuraamiselle potilaan seerumista käyttäen antigeenina terveiden verenluovuttajien seerumi-poolista eristettyä IgA:a.</p> <p>Kehitettyssä IgA EIA:ssa kiinteään faasiin sidottuna vasta-aineena käytettiin polyklonaalista vuohen anti-humaani IgA:a (IgG fraktio) ja tunnistavana vasta-aineena alkaliseen fosfaataasiin konjugoitua polyklonaalista kanin anti-humaani IgA:a (F(ab')₂ fragmentti). Substraattina oli <i>p</i>-nitrofenyyylifosfaatti. Menetelmän mitta-alue oli 3,3 - 150 µg/L. Näytteen esilaimennuksen tarve riippui proteiinipitoisuudesta, toteamisrajat olivat 50 µg/L seerumille, 25 µg/L suonensisäisesti annettavalle immunoglobuliinille ja 3 µg/L soluvalmisteiden pesuliuosille. Toistonäytteiden suhteelliset keskihajonnat vaihtelivat välillä 4 - 15 %. IgA EIA:lla ja radiaalisella immunodiffuusiomenetelmällä saadut tulokset korreloivat hyvin ($r = 0,996$).</p> <p>Anti-IgA EIA:ssa kiinteään faasiin sidottuna antigeenina käytettiin normaalista seerumi-poolista puhdistettua IgA:a. IgA eristettiin saostamalla seerumin proteiinit kapryylihapolla, poistamalla supernatantista IgG ja IgM affinitetikromatografialla ja lopuksi puhdistamalla IgA-preparaatista albumiini, polymeerit ja aggregaatit geelifiltraatiolla. Tunnistavana vasta-aineena anti-IgA EIA:ssa käytettiin alkaliseen fosfaataasiin konjugoitua polyklonaalista kanin anti-humaani IgG:a (IgG fraktio). Tulostuksesta saatiin kvantitatiivinen (AU/L-yksiköt) ottamalla vakioksi verensiirron jälkeisen anafylaktisen reaktion saaneen potilaan seerumi, joka sisälsi runsaasti vasta-aineita IgA:a kohtaan. EIA:lla ja klassisella hemagglutinaatiomenetelmällä saadut tulokset korreloivat hyvin ja toistonäytteille lasketut suhteelliset keskihajonnat vaihtelivat 9 ja 12 % välillä. Positiivisten IgA-vasta-ainetulosten oikeellisuus varmistettiin inhibitiokokeilla, joissa spesifiset IgA-vasta-aineet neutraloituivat normaalilla seerumilla, kaupallisella myelooma IgA:lla ja polyklonaalisella IgA:lla, muttei IgA-puutosseerumilla.</p> <p>Kummatkin kehitetyt menetelmät ovat nyt rutiinikäytössä SPR Veripalvelun kemian osastolla. Kun verensiirtoa tai immunoglobuliinihoitoa suunnitellaan potilaille, joilla on hypogammaglobulinemia, autoimmuunisairaus tai seerumin IgA alle viitearvoalueen, tutkitaan puuttuuko potilaalta IgA ja onko hänellä vasta-aineita IgA:a kohtaan. IgA-puutospotilalle suositellaan pestyjä soluvalmisteita ja vähän IgA:a sisältäviä immunoglobuliinivalmisteita. IgA EIA:a käytetään immunoglobuliini- ja veri- ja verivalmisteiden laadunvalvonnassa ja tuotekehityksessä.</p>			
Avainsanat — Nyckelord			
Anti-IgA; IgA; IgA-puutos; EIA			
Säilytyspaikka — Förvaringställe			
Helsingin yliopisto, biokemian osasto			
Muuta tietoja — Övriga uppgifter			