

กระบวนการปฏิสนธิ เป็นการรวมตัวของเซลล์สืบพันธุ์ระหว่างไข่กับตัวอสุจิ ซึ่งกระบวนการปฏิสนธิประกอบด้วย 2 ขั้นตอนที่สำคัญคือ ขั้นตอนการจับกันของตัวอสุจิกับชั้นนอกของไข่ และขั้นตอนการทำปฏิกิริยา (interaction) ระหว่างตัวอสุจิกับผิวเซลล์ของไข่ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ามิโปรตีนบนตัวอสุจิหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการปฏิสนธิโดยจะทำหน้าที่เป็นตัวรับ (receptor) ของ zona pellucida ของไข่ ในกระบวนการ sperm-zona pellucida binding และทำหน้าที่เป็น adhesion molecule อย่างไรก็ตามนักวิทยาศาสตร์ยังเชื่อว่ายังมีโปรตีนอีกจำนวนมากบนตัวอสุจิที่ยังไม่มีการค้นพบและมีหน้าที่ที่สำคัญในกระบวนการปฏิสนธิ

เพื่อจำแนกและศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนบนเซลล์อสุจิที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของตัวอสุจิและการเกิดภาวะมีบุตรยาก ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยจะทำการผลิตโมโนโคลนอล แอนติบอดี ต่อโปรตีนบนตัวอสุจิโดยใช้วิธี hybridoma และทำการ screen หา hybridomas ที่สร้างโมโนโคลนอล แอนติบอดีต่อตัวอสุจิโดย indirect immunofluorescence staining และวิเคราะห์ด้วย flow cytometer นำ hybridomas ที่ได้มาทำ single cell cloning โดยวิธี limiting dilution จากนั้นทำการศึกษาคุณสมบัติของโมโนโคลนอล แอนติบอดีที่ผลิตได้โดยการเชื่อมกับตัวอสุจิด้วยวิธี indirect immunofluorescence และวิเคราะห์ด้วย flow cytometer และ fluorescent microscope เพื่อดูตำแหน่งของโปรตีนจำเพาะบนเชื้ออสุจิ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นซึ่งผลการศึกษานี้จะทำให้ผู้วิจัยได้โมโนโคลนอล แอนติบอดีต่อโปรตีนบนเชื้ออสุจิจำนวนหนึ่ง ซึ่งแอนติบอดีส่วนหนึ่งอาจจำเพาะต่อโปรตีนที่มีรายงานมาแล้วและส่วนหนึ่งอาจจำเพาะต่อโปรตีนชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน โมโนโคลนอล แอนติบอดีเหล่านี้จะนำไปจำแนกและศึกษาคุณสมบัติต่อไป

Fertilization process is the union of gametes between egg and sperm. Fertilization process consisting of 2 major steps including sperm and zona pellucida binding and sperm-egg plasma membrane interaction. Previous studies reported that the sperm surface proteins are involved in fertilization process by act as receptors for zona pellucida in sperm-zona pellucida binding step. These proteins also function as adhesion molecules. However, scientists believe that some sperm surface proteins are still un-defined.

To identify and characterize sperm surface proteins that involved in sperm functions and infertility, in this study, monoclonal antibodies against human sperm will be generated by using hybridoma technique. For screening of monoclonal antibodies against sperm, indirect immunofluorescence and flow cytometry will be performed. Limiting dilution will be used for single cell cloning of the obtained hybridomas. Then, the reactivity of the generated mAbs will be tested by indirect immunofluorescence staining and analyzed by flow cytometer and fluorescence microscope for localization of the specific antigens.

This study is a preliminary step, by our experiments, various monoclonal antibodies against human sperm proteins will be generated. Some generated monoclonal antibodies may react reported proteins, however, some antibodies may react to un-characterized proteins. These monoclonal antibodies will be further studied and characterized.