บทคัดย่อ

T160705

โครงการวิจัยนี้ เป็นการศึกษาวิเคราะห์หาโครงสร้าง และคุณสมบัติของ chondroitin sulfate-C (CS-C) ที่ทำปฏิกิริยาได้กับmonoclonal antibody WF6 (MAb WF6) และการนำไปประยุกต์ใช้

การศึกษาหาโครงสร้างสามารถทำได้โดยการใช้ย่อย chondroitin sulfate-C จากกระดูกอ่อนปลาฉลามโดยใช้เอ็นไซม์ chondroitinase ABC และแยกส่วนโดยการใช้ วิธีทาง chromatography ชนิด Bio-Gel P6 และ FPLC system โดยใช้ Mono-Q column และ HPLC แต่ละส่วนของ oligosaccharides ที่แยกได้นำมาทดสอบกับคุณสมบัติกับ MAb WF6 ด้วยวิธี ELSA และ micro-array analysis โดยนำส่วนที่เล็กที่สุดที่สามารถทำปฏิกิริยาได้ มาวิเคราะห์ขนาดน้ำหนักโมเลกุล โดยเทคนิค MALDI-TOF mass spectrometer และ novel oligosaccharide sequencing โดยพบว่าสาย oligosaccharide ที่ทำปฏิกิริยาได้กับ MAb WF6 มีขนาดเท่ากับน้ำตาล 8 หน่วย และมีการเรียงของสายน้ำตาลเป็น ΔD-C-C-C

ได้ทำการนำเอาเซลล์ WF6 มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อการผลิต MAb WF6 จากนั้นนำเอาอาหารเลี้ยงเชื้อมาแยกบริสุทธิ์โดยวิธี Thiophilic gel chromatography เพื่อนำมาพัฒนาวิธีการตรวจวัดปริมาณของ WF6 epitope โดยการใช้ shark A1-proteoglycan fraction เป็นสารมาตรฐาน จากนั้นนำวิธีการที่พัฒนาได้นี้มาศึกษาหาปริมาณในซีรั่มของคนปรกติ และโรคต่าง ๆ เช่น ข้ออักเสบ ข้อเสื่อม และมะเร็งชนิดต่าง ๆ นอกจากนั้นยังนำไปศึกษาทางด้าน immuno-histological staining อีกด้วย

Abstract

TE 160705

This project was concerned about the analysis of the epitope of chondroitin 6-sulfate of monoclonal antibody WF6 and its applications.

The commercial shark chondroitin sulfate C as a source for the substrate subjected to the chondroitinase ABC and fractionated by Bio-Gel P6 chromatography, FPLC system with Mono-Q and HPLC. Then each fraction was tested against monoclonal antibody WF6 using ELISA technique and microarray. The positive fraction was then further analysed for the molecular weight using MALDI-TOF mass spectrometer, and a novel oligosaccharide sequencing. It was found that the oligosaccharide which reacted with monoclonal antibody WF6 was octasaccharide and the oligosaccharide sequence was ΔD-C-C-C.

The hybridoma cell line, WF6, was retrived from the storage and grown up by *in vitro* tissue culture. They grown in Iscove's DMEM (10% FBS) and serum-free medium as sources of large quantity of monoclonal antibody. The thiophilic gel chromatography was used to purify this antibody and then used as for the development of ELISA for quantitation of the WF6 epitope by using shark A1-proteoglycan fraction as standard. The developed method was used to quantify in normal and various diseases' samples such as rheumatoid arthritis (RA), osteoarthritis (OA), and cancers. Furthermore, this monoclonal antibody WF6 was applied in immuno-histological studies.