การผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อไซโตโครม P450 (CYP1A) ของปลากะพงขาว *(Lates calcarifer* Bloch) ที่ได้รับสารเบนโซ[เอ]ไพรีน ได้เซลล์ลูกผสมระหว่างเซลล์ม้ามของหนูขาวที่ถูกกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดีกับเซลล์ไมอิโลมา จำนวน 37 หลุม จาก 1152 หลุม และเมื่อทำการเลี้ยงต่อเพื่อคัดเลือกโคลนที่มีคุณสมบัติจำเพาะต่อโปรตีนไซโตโครม P450 จากตับปลากะพงขาวสกัด สกัดที่น้ำหนักโมเลกุล 56 และ 74 กิโลดาลตัน พบโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่คงคุณสมบัติความจำเพาะ จำนวน 3 โคลน ได้แก่ MAb seabass CYP1A 1.4-3D, 2.3-4G-6E และ 155-4D จากการตรวจหาไอโซไทป์ของโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้ พบว่า MAb seabass CYP1A 1.4-3D และ 2.3-4G-6E มีไอโซไทป์ เป็น IgG1 ส่วน โคลน 155-4D มีไอโซไทป์เป็น IgM โมโนโคลนอลที่ผลิตได้นี้สามารถจัดได้เป็น 2 กลุ่มตามความจำเพาะของโปรตีน CYP1A ในรูปแบบเสียสภาพ (denatured) และรูปแบบธรรมชาติ ได้แก่ กลุ่มที่ 1 โคลน MAb-seabass CYP1A 1.4-3D และ 2.3-4G-6E จำเพาะกับ CYP1A ในรูปแบบเสียสภาพเท่านั้น และกลุ่มที่ 2 MAb-seabass CYP1A 155-4D จำเพาะกับ CYP1A ทั้งในรูปแบบเสียสภาพ และรูปแบบธรรมชาติ นอกจากนี้ พบว่าโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้ทั้ง 3 โคลนนี้มีสมบัติในการเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่มได้กับปลาทะเลชนิดต่าง ๆ ปลาน้ำกร่อย และปลาน้ำจืดบางชนิดได้ ซึ่งทำให้สามารถแอนติบอดีนี้ไปใช้ตรวจหา CYP1A ได้ในปลาชนิดอื่นนอกเหนือจากการตรวจสอบในปลากะพงขาวอีกด้วย

241714

Monoclonal antibodies specific to Cytochrome P4501A of Asian sea bass (*Lates calcarifer* Bloch) exposed to Benzo[a]pyrene were generated from a mouse immunized with purified fish liver cytochrome P4501A extracts. The spleen was fused with myeloma to provide hybridomas. 1152 Hybridomas were screened by dot blot, western blot against Asian sea bass CYP1A. Three monoclonal antibodies (1.4-3D, 2.3-4G-6E and 155-4D) specific to Asian sea bass CYP1A (54 and 76 kD) were obtained and the isotyping were IgG1, IgG1 and IgM respectively. They were divided into 2 groups according to their specific binding to native and denatured form of CYP1A. The first group of antibodies (1.4-3D, 2.3-4G-6E) recognized only denatured and the second (155-4D) recognized both native and denatured forms of antigen as it could detect by immunohistochemistry, dot blot and western blot. They also bind to a group of cells in epithelium tissue. All antibodies did not show any cross-reaction to any components in haemolymph.