

การผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อ *Vibrio vulnificus* (VVC และ VVB) และ *Vibrio mimicus* DMST 15142 (VM) ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อให้เกิดโรคในคนและกุ้งกุลาดำ โดยการปลูก ภูมิคุ้มกันให้หนูขาวด้วยเซลล์รูปแบบ heat killed และ SDS-mercaptoethanol treated ของ VVC, VVB และ VM ได้โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อ *V. vulnificus* 41 โคลน แบ่งเป็น 12 กลุ่ม ตาม ความจำเพาะต่อโปรตีนในช่วงประมาณ 3-58 กิโลดาลตัน โมโนโคลนอลแอนติบอดี 4 กลุ่ม มีความจำเพาะต่อ *V. vulnificus* โดยไม่แสดงปฏิกิริยาข้ามกับแบคทีเรียสกุลวibriโอและแบคทีเรีย สกุลอื่นที่นำมาทดสอบ โคลนที่จับกับแถบโปรตีนช่วงประมาณ 3-14 กิโลดาลตัน มีความไวในการ ตรวจสอบ *V. vulnificus* ด้วยวิธี Dot blotting ที่ระดับความเข้มข้นประมาณ  $1.6 \times 10^5$  CFU/ml (ประมาณ  $1.6 \times 10^2$  เซลล์ต่อจุด) นอกจากนี้โมโนโคลนอลแอนติบอดีบางโคลนสามารถตรวจสอบ การติดเชื้อ *V. vulnificus* ในเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำด้วยวิธี Immunohistochemistry ได้ ส่วน โมโนโคลนอลแอนติบอดีอีก 8 กลุ่ม แสดงปฏิกิริยาข้ามกับสายพันธุ์อื่นๆ ของวibriโอและแบคทีเรีย สกุลอื่นๆ ในวงศ์ Vibrionaceae

การผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อ *V. mimicus* DMST 15142 ได้ 12 โคลน แบ่งเป็น 7 กลุ่ม ตามความจำเพาะต่อโปรตีนในช่วงประมาณ 3-55 กิโลดาลตัน โมโนโคลนอลแอนติบอดี 2 กลุ่ม มีความจำเพาะต่อ *V. mimicus* โดยไม่แสดงปฏิกิริยาข้ามกับแบคทีเรียสกุลวibriโอและ แบคทีเรียสกุลอื่นที่นำมาทดสอบ โคลนที่จับกับแถบโปรตีนช่วงประมาณ 19-32 กิโลดาลตัน มี ความไวในการตรวจสอบ *V. mimicus* DMST 15142 ด้วยวิธี Dot blotting ที่ระดับความเข้มข้น ประมาณ  $3.3 \times 10^4$  CFU/ml (ประมาณ  $3.3 \times 10^1$  เซลล์ต่อจุด) ส่วนโมโนโคลนอลแอนติบอดีอีก 5 กลุ่ม แสดงปฏิกิริยาข้ามกับสายพันธุ์อื่นๆ ของวibriโอและแบคทีเรียสกุลอื่นๆ ในวงศ์ Vibrionaceae มีเพียงกลุ่มที่จับกับแถบโปรตีนขนาดประมาณ 41 และ 55 กิโลดาลตันเท่านั้นที่ สามารถตรวจสอบการติดเชื้อ *V. mimicus* ในเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำด้วยวิธี Immunohistochemistry

โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่เตรียมได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปพัฒนาเป็นชุดตรวจเพื่อ ใช้จำแนกแบคทีเรียบนพื้นฐานทางวิทยาภูมิคุ้มกัน

Monoclonal antibodies (MAbs) against *V. vulnificus* (VVC and VVB) and *V. mimicus* DMST 15142 (VM) that cause diseases in human and black tiger shrimp, using heat killed and SDS-mercaptoethanol treated form of VVC, VVB and VM for immunizing swiss mice were performed. Forty-one MAbs against *V. vulnificus* were selected and divided into 12 groups according to their specificities to various proteins range from ~3-58 kDa. Four groups were specific to *V. vulnificus* without cross reactivity to other *Vibrio* spp. and other bacteria. MAbs binding to proteins range from ~3-14 kDa were able to detect *V. vulnificus* by Dot blotting with high sensitivity at  $\sim 1.6 \times 10^5$  CFU/ml ( $\sim 1.6 \times 10^2$  cells/spot). In addition, some MAbs were able to recognize *V. vulnificus* in tissues by means of Immunohistochemistry. The remaining groups demonstrated cross reactivity to other *Vibrio* spp. and other genera of family Vibrionaceae.

Twelve MAbs against *V. mimicus* DMST 15142 were selected and divided into 7 groups according to their specificities to various proteins range from ~3-55 kDa. Two groups were specific to *V. mimicus* without cross reactivity to other *Vibrio* spp. and other bacteria. MAbs binding to proteins range from ~19-32 kDa could detect *V. mimicus* DMST 15142 by Dot blotting with high sensitivity at  $\sim 3.3 \times 10^4$  CFU/ml ( $\sim 3.3 \times 10^1$  cells/spot). The remaining groups demonstrated cross reactivity to other *Vibrio* spp. and other genera of family Vibrionaceae. Only a group of proteins binding to molecular mass of ~41 and 55 kDa recognized the *V. mimicus* in tissue by means of Immunohistochemistry.

MAbs prepared from this study can be used to identify bacteria classification on the basic of immunology.