

คลอแรมเฟนิคอล (CAP) เป็นสารปฏิชีวนะที่ถูกนำมาใช้ในการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียในสัตว์ และสามารถตกค้างอยู่ในเนื้อหรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ใช้เป็นอาหารได้ ซึ่งอาจก่อให้เกิดผลเสียต่อผู้บริโภค ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการตรวจวัดปริมาณการตกค้างคลอแรมเฟนิคอลในอาหาร การตรวจวัดด้วยวิธีทาง ELISA เหมาะแก่การตรวจเบื้องต้นสำหรับตัวอย่างจำนวนมาก สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์จึงได้ผลิตโมโนโคลน (CAP 79) ที่สามารถสร้างโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อคลอแรมเฟนิคอล งานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่สำคัญที่มีผลต่อการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีจากโคลน CAP 79 ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฮอลโลว์ไฟเบอร์ โดยในการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะการให้อากาศ พบว่าวิธีการให้อากาศแพร่ผ่านผนังของสายยางซิลิโคนให้ผลดีใกล้เคียงกับวิธีการให้อากาศในอาหารโดยการไหลสวนทางกันในฮอลโลว์ไฟเบอร์ เมื่อศึกษาปริมาตรและระยะเวลาการเก็บแอนติบอดี พบว่าต้องเก็บอาหารเลี้ยงเซลล์ออกจากส่วน extracapillary space (ECS) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ครั้งแรกในวันที่ 7 และเว้นระยะการเก็บทุกๆ 3 วัน ในระยะ log phase (วันที่ 16) จึงเพิ่มปริมาตรการเก็บเป็น 20 มิลลิลิตร เพื่อลดจำนวนเซลล์ที่หนาแน่นเกินไป ทำให้ในระยะ stationary phase มีความหนาแน่นของเซลล์ $2.5-5.1 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีจำนวนเซลล์มีชีวิต 20-40 เปอร์เซ็นต์ และจากการวิเคราะห์ปริมาณสารในอาหารพบว่ามีปริมาณกลูโคสเหลืออยู่ 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนของเสียที่เกิดขึ้น ได้แก่ แลคเตท และแอมโมเนีย พบว่ามีอยู่ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 3.6 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ เมื่อศึกษาปริมาณซีรัมจากลูกวัวที่ใช้เติมในอาหาร พบว่าที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เซลล์มีชีวิตมีปริมาณมากกว่าและมีอัตราการผลิตแอนติบอดีมากกว่าที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้พบว่าเมื่อใช้ฮอลโลว์ไฟเบอร์ที่มีเมมเบรนชนิดเซลลูโลส เซลล์เจริญได้ดีและสามารถผลิตแอนติบอดีได้มากกว่าการใช้ฮอลโลว์ไฟเบอร์ที่มีเมมเบรนชนิดพอลิซัลโฟน โดยลักษณะการวางคอลัมน์ของฮอลโลว์ไฟเบอร์นั้นจะวางในแนวนานกับพื้นเพื่อให้เซลล์ที่ตกตะกอนมีพื้นที่ในการกระจายตัวตลอดความยาวของคอลัมน์ เมื่อใช้ภาวะที่เหมาะสมดังกล่าว สามารถผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่มีความเข้มข้นเฉลี่ย 4.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และได้ปริมาณแอนติบอดีทั้งหมด 1113.5 มิลลิกรัม ใน 49 วัน ซึ่งมีอัตราการผลิต 22.7 มิลลิกรัมต่อวัน

Chloramphenicol (CAP) is an antibiotic substance widely used to treat bacterial infection in animals. It can be remained in meat or products from animals which directly affects consumers. Consequently, the monitoring of CAP residue in food is necessary. ELISA is a suitable method for preliminary determination of massive samples. The Institute of Biotechnology Genetic and Engineering, therefore, have produced monoclon (CAP 79) which produces a monoclonal antibody specific for CAP. The objective of this work is to study several important factors affecting the production of monoclonal antibody from CAP 79 in hollow-fiber bioreactor. Comparative study of aeration methods showed that the air diffusion through silicone tube method was as good as the aeration into the medium by the counter current method in hollow fiber. Study of antibody harvested volume and period suggested that 10 ml of medium must be harvested from extracapillary space (ECS) on day 7 and then every three days of cultivation. During log phase (on day 16), the harvested volume was increased to 20 ml in order to decrease the cell density, thus retaining the cell density of $2.5-5.1 \times 10^7$ cells/ml and the cell viability of 20-40% in stationary phase. Analysis of culture medium revealed that the concentration of glucose left in the medium was 3 mg/ml while the amounts of produced waste, lactate and ammonia were 1.2 mg/ml and 3.6 mM, respectively. In case of the amount of fetal calf serum (FCS) added into the medium, it was found that cell viability and antibody productivity at 10% FCS were higher than those at 5% FCS. Furthermore, higher cell growth and antibody production were achieved when hollow fiber with cellulose membrane was used as compared to hollow fiber with polysulfone membrane. In addition, Hollow fiber column should be placed horizontally so that cells could spread through out the length of the column. With the stated optimum condition, the antibody concentration of 4.1 mg/ml, the total amount of antibody of 1113.5 mg (22.7 mg/day productivity) was obtained in 49 days of cultivation.