

สุปรีชา ฉัตรทอง : การผลิตและลักษณะสมบัติของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรเจสเตอโรน
(PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF MONOCLONAL ANTIBODIES
AGAINST PROGESTERONE) อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร.กิตตินันท์ โกมลภิส, อาจารย์ที่
ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร.ธนาภัทร ปาลกะ, ทรงจันทร์ ภูทอง, 101 หน้า. ISBN 974-17-4035-2.

โปรเจสเตอโรนเป็นฮอร์โมนในกลุ่มสเตอรอยด์ มีน้ำหนักโมเลกุล 314 ดาลตัน ฮอร์โมนนี้ถูกสร้างและหลั่งออกมาสู่น้ำนม และกระแสเลือด ในวงรอบการเป็นสัดและในขณะตั้งท้องของโคนม โดยระดับโปรเจสเตอโรนจะสูงสุดประมาณวันที่ 21 และ 22 ของการตั้งครรภ์ ดังนั้นในการหาระยะเวลาเป็นสัดของโคนมเพื่อกำหนดวันผสมพันธุ์ที่ถูกต้อง และการตรวจสอบการตั้งครรภ์สามารถทำได้โดยการวัดระดับโปรเจสเตอโรน

ในการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรเจสเตอโรน สำหรับนำไปผลิตเป็นชุดตรวจหาปริมาณโปรเจสเตอโรน ในการเตรียมเซลล์ไฮบริโดมาที่ผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรเจสเตอโรนนั้น ได้ทำการหลอมรวมเซลล์ทั้งหมด 4 ครั้ง ได้เซลล์ไฮบริโดมาที่ผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรเจสเตอโรน จำนวน 12 โคลน คือโคลนรหัส 2/A3-F1, 3/F7-F1, 1/10B10-F4, 2/A3-F4, 3/C9-F4, 3/D7-F4, 3/E4-F4, 3/F7-F4, 4/E11-F4, 5/G7/F4, 5/H2-F4 และ 5/H8-F4 จากการศึกษาสมบัติของโมโนโคลนอลแอนติบอดี พบว่าโมโนโคลนอลแอนติบอดีรหัส 2/A3-F4, 3/C9-F4, 3/F7-F4, 4/E11-F4 และ 5/H8-F4 มีไอโซไทป์เป็น IgG1 รหัส 3/D7-F4 และ 5/G7/F4 มีไอโซไทป์เป็น IgG2a รหัส 2/A3-F1, 3/F7-F1 และ 1/10B10-F4 มีไอโซไทป์เป็น IgG3 รหัส 3/E4-F4 และ 5/H2-F4 มี ไอโซไทป์เป็น IgG2b และ IgM ตามลำดับ เมื่อทดสอบความจำเพาะในการจับกับโปรเจสเตอโรนในรูปอิสระ พบว่าโมโนโคลนอลแอนติบอดีรหัส 2/A3-F1 และ 3/F7-F1 ไม่มีความจำเพาะกับโปรเจสเตอโรนในรูปอิสระ ส่วนโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่เหลืออื่น ๆ อีก 10 โคลน มีความจำเพาะกับโปรเจสเตอโรนในรูปอิสระ โดยมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 2 - 361 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า LOD อยู่ในช่วง 0.03 - 80 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำโมโนโคลนอลแอนติบอดีเหล่านี้ไปทดสอบการทำปฏิกิริยาข้ามกับสารในกลุ่มฮอร์โมนสเตอรอยด์ พบว่าโมโนโคลน 3/D7-F4, 3/E4-F4 ทำปฏิกิริยาข้ามกับสารในและนอกกลุ่มฮอร์โมนสเตอรอยด์ต่ำกว่า 0.01 เปอร์เซ็นต์

Progesterone is a steroid hormone with a molecular weight of 314 daltons and is secreted in milk and blood during estrus and pregnancy in cattle. The progesterone level reaches its peak on the 21st and 22nd day of pregnancy. Therefore, the level of progesterone is routinely used to predict the date of fertilization and pregnancy.

The purpose of this research is to produce monoclonal antibodies against progesterone for test kit development. To produce hybridoma cells which can secrete monoclonal antibodies specific for progesterone, four somatic fusions were carried out, yielding twelve monoclones named 2/A3-F1, 3/F7-F1, 1/10B10-F4, 2/A3-F4, 3/C9-F4, 3/D7-F4, 3/E4-F4, 3/F7-F4, 4/E11-F4, 5/G7-F4, 5/H2-F4 and 5/H8-F4. The properties of all monoclonal antibodies were characterized. The isotypes of each monoclonal antibodies were determined as follows; 2/A3-F4, 3/C9-F4, 3/F7-F4, 4/E11-F4 and 5/H8-F4 are IgG1, 3/D7-F4 and 5/G7-F4 are IgG2a, 3/F7-F1 and 1/10B10-F4 are IgG3; 3/E4-F4 and 5/H2-F4 is IgG2b and IgM respectively. The two antibodies, 2/A3-F1 and 3/F7-F1, are nonspecific for progesterone in a free form, but the rest of antibodies are specific for progesterone in a free form with the IC₅₀ value in the range of 2 - 361 ng/ml and the LOD value in the range of 0.03 - 80 ng/ml. The cross reactivity of 3/D7-F4 and 3/E4-F4 with other steroid hormones and antibiotics is less than 0.01%.