

อภิรักษ์ ตันศิริสิทธิกุล : การผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อ *Vibrio alginolyticus*

(PRODUCTION OF MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST *Vibrio alginolyticus*)

อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร.ไพศาล สิทธิกรกุล,

82 หน้า. ISBN 974-14-2291-1.

ได้ผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแบคทีเรีย *Vibrio alginolyticus* 14800, Y16 และ BY2 โดยใช้แบคทีเรียทั้งเซลล์เป็นแอนติเจน โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้มี 27 ชนิด สามารถแบ่งออกได้เป็น 13 กลุ่มตามความจำเพาะต่อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบและโปรตีนต่าง ๆ ในช่วง 7-300 กิโลดาลตัน แอนติบอดี 2 กลุ่มแรกเป็นแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อสายพันธุ์ โดยมีความจำเพาะต่อ *V. alginolyticus* 14800 หรือ Y16 เพียงอย่างเดียวแต่ไม่จับกับ *V. alginolyticus* สายพันธุ์อื่น แอนติบอดี 2 กลุ่มนี้จับกับแถบของแอนติเจนซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 12-25 กิโลดาลตัน หรือ 135 กิโลดาลตัน แอนติบอดีกลุ่มที่ 3 มีความจำเพาะกว้างกว่าแอนติบอดีใน 2 กลุ่มแรก โดยมีความจำเพาะต่อ *V. alginolyticus* Y16 และ BY2 และจับกับแถบของแอนติเจนซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 7-15 กิโลดาลตัน แอนติบอดีกลุ่มที่ 4 และ 5 เป็นแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อสปีชีส์ โดยมีความจำเพาะต่อ *V. alginolyticus* ทั้ง 3 สายพันธุ์ และจับกับแถบของแอนติเจนซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 10 กับ 20 และ 300 กิโลดาลตันตามลำดับ แอนติบอดีกลุ่มที่ 6 เป็นแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อสกุล โดยมีความจำเพาะต่อแบคทีเรียในสกุลวิบริโอทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบ และจับกับแถบของแอนติเจนซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50 กิโลดาลตัน ส่วนโมโนโคลนอลแอนติบอดีอีก 7 กลุ่มที่ผลิตได้แสดงปฏิกิริยาข้ามต่อ *Vibrio* spp. อื่นที่ใช้ในการทดสอบแตกต่างกันออกไป โมโนโคลนอลแอนติบอดีกลุ่มที่ 1 4 5 และ 6 สามารถตรวจติดตามการติดเชื้อ *V. alginolyticus* ในเนื้อเยื่อด้วยวิธี immunohistochemistry ได้ และสามารถใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีกลุ่มที่ 1 2 3 4 และ 5 จำแนกหรือแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ของ *V. alginolyticus* ด้วยวิธี Dot blot ได้ ดังนั้นการศึกษานี้ทำให้ได้วิธีทางอิมมูโนวิทยาที่ไม่เพียงแต่จำแนก *V. alginolyticus* เท่านั้นแต่ยังสามารถพิสูจน์ทราบสายพันธุ์ของ *V. alginolyticus* ได้อีกด้วย และคาดว่าจะสามารถนำโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้ไปเตรียมเป็นชุดตรวจสำเร็จรูปสะดวกใช้ซึ่งมีความไวสูงเพื่อใช้วินิจฉัย *V. alginolyticus* ต่อไป

# # 4672492623 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: DOT BLOT/ IMMUNOHISTOCHEMISTRY/ WESTERN BLOT/  
MONOCLONAL ANTIBODY/ *Vibrio alginolyticus*

APIRAK TANSIRISITTIKUN : PRODUCTION OF MONOCLONAL  
ANTIBODIES AGAINST *Vibrio alginolyticus*.

THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SIRIRAT RENGPIPAT, Ph.D.,

THESIS CO-ADVISOR : ASSOC. PROF. PAISARN SITHIGORNGUL, Ph.D.,

82 pp. ISBN 974-14-2291-1.

Twenty-sixth monoclonal antibodies (MAbs) against *Vibrio alginolyticus* 14800, Y16 and BY2 were generated using whole cell of bacteria for immunization. They were divided into 13 groups according to their specificities and ability to bind the antigen ranging from 7-300 kDa. The first two groups of MAbs were species-specific MAbs, they bound to only one strain of *V. alginolyticus*; 14800 or Y16 but did not bind to the other *V. alginolyticus* strain, they bound to a smear band of antigen at molecular mass ranging from 12 to 25 kDa or 135 kDa antigens. The third group of MAbs demonstrated broader specificity, they bound to both *V. alginolyticus* Y16 and BY2, and bound to a smear band of antigen at molecular mass ranging from 7-15 kDa. The fourth and fifth groups of MAbs were species-specific MAbs, they recognized all three *V. alginolyticus* strains and they bound to two different band of antigens at molecular mass of 10 and 20 kDa, 300 kDa antigens, respectively. The antibodies in the sixth group were genus-specific MAbs, they bound to all *Vibrio* spp. tested and bound to an antigen at molecular mass of 50 kDa. The other 7 groups of monoclonal antibodies showed different cross-reactivity pattern to various *Vibrio* spp. tested. MAbs in the first, fourth, fifth and sixth group could be used to detect *V. alginolyticus* infection in tissues by immunohistochemistry. MAbs in the first, second, third, fourth and fifth group can be used to identify or differentiate *V. alginolyticus* by dot blot assay. Therefore, this study provided an immunological tool for specific identification not only to *V. alginolyticus* species but also to differentiate some strains among this bacteria as well. Further development of highly specific assay and convenient kit using these monoclonal antibodies for detection of *V. alginolyticus* are in progress.