

บทคัดย่อภาษาไทย

ไนโตรฟูราโซน (Nitrofurazone ,NFZ) เป็นยาในกลุ่มสารไนโตรฟูแรนที่เกษตรกรนิยมใช้ในการป้องกันและรักษาโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารในสัตว์เพื่อการบริโภค ได้แก่ โค ,สุกร ,ไก่ ,ปลา และกุ้ง ยานี้เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนเป็นสารเมแทบอลไลต์ คือ เซมิคาร์บาไซด์ (Semicarbazide ,SEM) ติดกับเนื้อเยื่อ อาจเป็นสารก่อมะเร็งและก่อให้เกิดกลายพันธุ์

งานวิจัยนี้ได้ทำการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อสาร SEM หรือ สารอนุพันธ์ NPSEM ซึ่งเป็นรูปสารสำหรับการตรวจหาสารตกค้างในเนื้อสัตว์ โดยการฉีดกระตุ้นหนูทดลองด้วยอนุพันธ์ CPSEM ที่เชื่อมต่อด้วย BSA (CPAOZ-BSA) จากผลการทดลองที่ได้ พบว่า CPSEM-BSA สามารถที่จะใช้เป็นแอนติเจนในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของหนูทดลอง เพราะสามารถผลิตไฮบริโดมาโคลนที่ผลิตแอนติบอดี ซึ่งมีความสามารถในการจับกับสาร NPSEM และ NFZ ในรูปอิสระได้ จากการคัดเลือกไฮบริโดมาเซลล์โคลนที่ผลิตแอนติบอดีต่อสาร NPSEM มีจำนวน 22 โคลน โดยเป็นโคลนจากเซลล์หลุมต้น 11/10G และ 12/1A ซึ่งโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ได้นี้ ทุกโคลนสามารถจับกับ NFZ ซึ่งเป็นยาตั้งต้น และ NPSEM ในรูปอนุพันธ์ สำหรับใช้ตรวจหาสารตกค้าง โคลนที่ได้จากเซลล์หลุมต้น 11/10G จะสามารถจับกับ NPSEM ได้ดีกว่าโคลนที่ได้จากเซลล์หลุมต้น 12/1A และแอนติบอดีที่ได้เป็นชนิด IgG₃ ส่วนโคลนที่ได้จากเซลล์หลุมต้น 12/1A เป็นชนิด IgG₃ และ IgM จากโคลนที่ได้เหล่านี้จึงทำการคัดเลือกโคลน 3 โคลน จากเซลล์หลุมต้น 11/10G และ 12/1A โดยเลือกจากโคลนที่สามารถจับกับ NPSEM ได้ดี คือ มีค่า IC₅₀ ต่ำที่สุด ได้แก่ โคลนหมายเลข 8 และ 43 จากเซลล์หลุมต้น 11/10G ซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 13.9 และ 13.1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเลือกโคลนหมายเลข 25 จากเซลล์หลุมต้น 12/1A ซึ่งจับกับ NFZ ได้ดี มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 145.2 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี affinity chromatography ซึ่งโคลนทั้ง 3 หมายเลข มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 1.17 ,0.99 และ 1.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นทำการทดสอบหาความจำเพาะของโคลนหมายเลข 8 ,25 และ 43 ต่อสาร NPSEEM และ NFZ อีกครั้ง ได้ค่า IC₅₀ และค่า LOD ต่อสาร NPSEM ของโคลนหมายเลข 8 เท่ากับ 56.77 และ 2.96 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โคลนหมายเลข 25 เท่ากับ 134.90 และ 4.57 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และโคลนหมายเลข 43 เท่ากับ 23.75 และ 0.50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับค่า IC₅₀ และค่า LOD ต่อสาร NFZ นั้น โคลนหมายเลข 8 มีค่าเท่ากับ 572.90 และ 8.11 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โคลนหมายเลข 25 มีค่าเท่ากับ 903.60 และ 15.52 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และโคลนหมายเลข 43 มีค่าเท่ากับ 142.10 และ 0.83 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเมื่อดูจากค่า IC₅₀ และค่า LOD ของโคลนทั้ง 3 หมายเลข พบว่าทั้ง 3 โคลนมีความจำเพาะต่อสาร NPSEM มากกว่า NFZ โดยโคลนหมายเลข 43 มีความไวมากที่สุด

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Nitrofurazone (NFZ) is a nitrofuran drug which is widely used in prevention and treatment of animals such as cattle, swine, chicken, fish and shrimp, for consumption. When NFZ enters the body, it is metabolized to semicarbazide (SEM) which attached to the tissue and is considered to be a carcinogen and mutagen.

In this research, monoclonal antibody against SEM or its nitrophenyl derivative (NPSEM) which is the stabilized form for residue detection was produced. Immunization of mice was performed by using the carboxyphenyl derivative-bovine serum albumin conjugate (CPSEM-BSA) as the antigens. The results suggested that CPSEM-BSA could induce hybridoma clone which produce antibodies with binding ability to NPSEM, and NFZ. After screening, twenty-two hybridomas which produce antibody against NPSEM were selected from the originated well no. 11/10G and 12/1A. All antibodies could bind to NFZ and NPSEM. Clones from well no. 11/10G were better than those from well no. 12/1A in NPSEM-binding ability. After characterization, the isotype of antibody from well no. 11/10G and 12/1A was found to be IgG₃ and IgM, respectively. Three monoclones were selected based on their ability to bind with NPSEM as quantified in term of the 50% inhibition concentration value. Clone no. 8 and no. 43 were obtained from the originated well no. 11/10G while clone no. 25 was from the well no. 12/1A. Their IC₅₀ values were 13.9, 13.1 and 145.2 nanogram per millilitre, respectively. Proteins were purified by affinity chromatography yielding protein content at 1.17, 0.99 and 1.20 mg/ml, respectively. Subsequently, the specificities of antibody from clone no. 8, 25 and 43 to NPSEM and NFZ were reanalyzed. The IC₅₀ and LOD for NPSEM of clone no. 8 were 56.77 and 2.96 ng/ml while those of clone no. 25 were 134.90 and 4.57 ng/ml and those of clone no. 43 were 23.75 and 0.50 ng/ml. The IC₅₀ and LOD for NFZ of clone no. 8 were found to be 572.90 and 8.11 ng/ml while those of clone no.25 were 903.60 and 15.52 ng/ml and those of clone no.43 were 142.10 and 0.83 ng/ml. From these IC₅₀ and LOD values, it was found that antibodies of all three clones are were more specific to NPSEM than to NFZ and clone no.43 was the most sensitive clone.