mutagenesis อย่างไรก็ตาม การแยกบริสุทธิ์ของแอนติบอดี scFv ด้วยคอลัมน์ Ni2+ พบว่าความบริสุทธิ์ไม่เพียงพอที่จะนำไปใช้ในการศึกษาต่อ

การเปลี่ยนโครงสร้างของ scFv ไปเป็น Fab เพื่อเพิ่มความคงตัว และความสามารถในการจับกับแอนติเจน ซึ่งแอนติบอดี Fab ที่ถูกแยกบริสุทธิ์ด้วย Protein G chromatography มีความบริสุทธิ์พอที่จะนำไปทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของพีเอสเอ ที่แอนติบอดีสามารถตรวจสอบ ความสามารถในการจับอย่างจำเพาะของแอนติบอดี และวัดแรงของการจับกัน ระหว่างแอนติบอดีและแอนติเจนได้ การศึกษาครั้งนี้สามารถคัดเลือกแอนติบอดี scFv และ Fab ที่จำเพาะต่อพีเอสเอ ซึ่งการศึกษาคุณลักษณะเหล่านี้ของแอนติบอดี Fab เพื่อใช้ตรวจวัดพีเอสเอได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ : พีเอสเอ เฟจดิสเพลย์ scFv antibody

ภาษาอังกฤษ

ส่วนที่ 1

Research Title Development and production of antibody to prostate specific antigen as a diagnostic kit for benign prostate hypertrophy and prostate cancer

Researcher Wisit Tangkeangsirisin (Project Leader)

Faculty of Pharmacy, Silpakorn University

Researcher Siripan Limsirichaikul (Co-Researcher)

Faculty of Pharmacy, Silpakorn University

Researcher Sarawut Nukoolkarn (Co-Researcher)

Faculty of Pharmacy, Silpakorn University

Research Grants Fiscal Year 2550 ,

Research and Development Institute, Silpakorn University

Year of completion 2560

Type of research applied research

Subjects (based NRCT) Chemistry and Pharmacy

ส่วนที่ 2 Abstract

Prostate specific antigen (PSA) level in serum correlates with prostate diseases; thus, it has been used as a marker for monitoring benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. PSA screening method has been developed for more accurate detection. Monoclonal antibody (mAb) has been used to develop an enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA). “Phage Display” is a technology for mAb selection; because, this technology is rapid, easy, low cost, and a high affinity antibody selection. The purpose of this study is to select single chain Fv (scFv) antibody from

Tomlinson I+J library, which was developed to large diversity of antibody by MRC laboratory. The selected scFv from panning is used for further characterization.

The *in vitro* selection result shows that the positive clones are enriched in round 4 of panning. Four hundred clones were randomly screened for scFv expression. There were 11 clones that could express scFv antibody specific to PSA. The diversity analysis shows that all clones have an identical DNA fingerprint pattern; this result indicates that there are no variations of all clones. The scFv clone is additionally analyzed for DNA sequencing and purified by Ni2+ column. From the DNA sequence result, one amber stop codon (TAG) has been revealed within VH genes. The TAG is transferred to GAG by site-directed mutagenesis. The scFv purification using Ni2+ column shows the impurity of scFv antibody for further characterizations.

The transformation of scFv construct to Fab construct is considered for more stable and higher affinity of antibody. Fab is purified by Protein F chromatography; it showed the purity of Fab antibody for further studies, including detection limit, cross reactivity and affinity determination. In conclusion, this study can select the potential scFv and Fab antibody against to PSA. In the future, the characterizations will be improved for more efficient diagnostic tool for PSA detection.

Key words : .Prostate specific antigen, Phage Display, single chain Fv antibody