สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

แบบ สว.ว 5

แบบฟอร์มบทคัดย่อ

ภาษาไทย

ส่วนที่ 1

ชื่อโครงการ การพัฒนา และผลิตแอนติบอดี ของ prostate specific antigen สำหรับ ตรวจวินิจฉัย โรคต่อมลูกหมากโต และมะเร็งต่อมลูกหมาก

ชื่อผู้วิจัย 1. ภก.ผศ.ดร.วิสิฐ ตั้งเคียงศิริสิน (หัวหน้าโครงการ)
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
2. ภญ.ผศ.ดร.สิริพรรณ ลิ้มศิริชัยกุล (ผู้ร่วมวิจัย)
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร (ผู้ร่วมวิจัย)
3.ภก.ผศ.ดร.สราวุธ นุกูลการ (ผู้ร่วมวิจัย)
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2550
สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่เสร็จ 2560

ประเภทการวิจัย การวิจัยประยุกต์

สาขาวิชา (อ้างอิงตามวช.) สาขาวิทยาศาสตร์ เคมีและเภสัช

ส่วนที่ 2 บทคัดย่อ

ระดับพีเอสเอ (Prostate Specific Antigen, PSA) ในซีรัมมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคในต่อมลูกหมาก พีเอสเอจึงถูกนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ความเสี่ยงของการเกิดโรคต่อมลูกหมากโต และมะเร็งต่อมลูกหมาก ในปัจจุบัน การตรวจระดับพีเอสเอในซีรัม ถูกพัฒนาให้สามารถตรวจสอบระดับพีเอสเอได้แม่นยำมากขึ้นโดยโมโนโคลนัลแอนติบอดีถูกนำมาใช้เป็นตัวพัฒนาการตรวจสอบพีเอสเอด้วยวิธี Enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA) ซึ่งเทคโนโลยีเฟจดิสเพลย์เป็นหนึ่งในวิธีที่ใช้ในการคัดเลือกโมโนโคลนัลแอนติบอดี เนื่องจากรวดเร็ว สะดวก ลดค่าใช้จ่าย และสามารถคัดเลือกแอนติบอดีที่มีความจำเพาะสูงได้ จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้คือการคัดเลือกโมโนโคลนัลแอนติบอดีรูปแบบ single chain Fv (scFV) ที่จำเพาะต่อพีเอสเอของมนุษย์ ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ใช้ Tomlinson I+J library ซึ่งถูกพัฒนาโดย MRC Laboratory ให้มี scFv แอนติบอดีที่หลากหลาย โดยแอนติบอดี scFv ที่ถูกคัดเลือกจากการ panning จะถูกนำไปศึกษาคุณลักษณะต่อไป

จากผลการคัดเลือกด้วยวิธี panning พบว่ามีการเพิ่มจำนวนของโคลนที่จำเพาะต่อพีเอสเอในรอบที่สี่ของการ panning จึงทำการสุ่มคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างจำนวน 400 โคลน มาตรวจสอบการสร้างแอนติบอดี ผลการศึกษาพบว่า มีจำนวน 11 โคลนที่สร้างแอนติบอดี scFv ต่อพีเอสเอ และเมื่อศึกษาความหลากหลายของโคลนพบว่าโคลนที่คัดเลือกได้มีรูปแบบของ DNA fingerprint เหมือนกัน จึงคัดเลือกตัวแทนมาหนึ่งโคลนเพื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ รวมถึงการแยกบริสุทธิ์ของแอนติบอดี scFv ด้วยคอลัมน์ Ni2+ จากผลการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่า มี amber stop codon (TAG) ภายในยีน VH ผู้วิจัยจึงเปลี่ยน TAG ดังกล่าวเป็น GAG codon ด้วยวิธี site-directed

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