250340

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
250340

รหัสโครงการ SUT3-304-51-24-04

รายงานการวิจัย

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการแสดงโปรตีนบนผิวฟาจในการผลิตแอนติบอดีต่อสารปนเปื้อนโมเลกุลเล็กทางการเกษตร

Application of Phage Display Technology for the Production of Antibodies against Agricultural Contaminant Haptens

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

b00255284

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
250340

รหัสโครงการ SUT3-304-51-24-04

รายงานการวิจัย

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการแสดงโปรตีนบนผิวฟาจในการผลิตแอนติบอดีต่อสารปนเปื้อนโมเลกุลเล็กทางการเกษตร

Application of Phage Display Technology for the Production of Antibodies against Agricultural Contaminant Haptens

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ
รองศาสตราจารย์ ดร. มณฑารพ ยมาภัย
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
สำนักวิชา เทคโนโลยีการเกษตร

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ ๒๕๕๑
ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

พฤษภาคม/๒๕๕๕

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ ๒๕๕๑-๒๕๕๓ ผู้วิจัยขอขอบคุณ นางสาว กุลฑลี ร่างน้อย นักศึกษามหาบัณฑิต ที่เป็นกำลังสำคัญหลักในการทำวิจัยเรื่องนี้ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณ ดร. พจมาศ แพนศรีที่ได้ช่วยคัดหาแอนติบอดีจากคลังย่าโม ๑ และ Prof. Dr. Richard O' Kennedy ที่ได้รับเป็น host professor ให้กับกุลฑลี เพื่อไปทำการวิเคราะห์ความสามารถของ แอนติบอดีในการจับกับอะฟลาทอกซิน ที่ประเทศไอร์แลนด์ ภายใต้ทุน Duo-Thailand รวมทั้งขอขอบคุณ คุณศุภกาญจน์ บุญอยู่ ที่ช่วยดูแลในเรื่องงานการเงิน เป็นอย่างดี

บทคัดย่อ

250340

ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการแสดงโปรตีนบนผิวเฟจในการผลิตแอนติบอดีต่อสารอะฟลาทอกซิน ซึ่งเป็นสารพิษปนเปื้อนโมเลกุลเล็กจากเชื้อรา ที่เป็นสารก่อมะเร็งร้ายแรง และเป็นปัญหาต่อผลผลิตทางการเกษตรของประเทศไทย และประเทศอื่นๆ ที่อยู่ในสภาวะร้อนชื้น ทั่วโลก โดยสามารถทำการคัดหาแอนติบอดี ส่วน scFv ที่ความสามารถสูงในการจับกับ อะฟลาทอกซิน จากคลังแอนติบอดี ของมนุษย์ ชื่อคลัง “ย่าโม ๑” ซึ่งเป็นคลังที่ได้สร้างขึ้นเองในห้องปฏิบัติการของผู้วิจัย โดยแอนติบอดีที่คัดหามาได้นี้ มีศักยภาพในการนำไปพัฒนาต่อ ทั้งเพื่อการรักษา และการตรวจวิเคราะห์ โดยในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้แสดงถึงศักยภาพของการนำไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ การปนเปื้อน ด้วยการนำแอนติบอดีที่คัดหามาได้ ไปพัฒนาให้มีคุณสมบัติเหมาะสมยิ่งขึ้น ด้วยกระบวนการวิศวกรรมแอนติบอดี โดยการนำยีนของแอนติบอดีส่วน scFv ที่ได้คัดหามาจากคลังย่าโม ๑ ไปเชื่อมต่อกับยีนของเอนไซม์ อัลคาไล ฟอสฟาเทส แล้วนำมาแสดงออกในระบบการผลิตโปรตีนของแบคทีเรีย อีโคไล เพื่อสร้างให้เป็นตัวตรวจสอบแบบสำเร็จในขั้นเดียว ที่สะดวกต่อการนำไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ การปนเปื้อนผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร โดยจากการวิเคราะห์คุณสมบัติ และประสิทธิภาพของ แอนติบอดี แบบ scFv-AP ที่ได้พัฒนาขึ้นนั้นพบว่า แอนติบอดีชนิด scFv-AP ที่ได้พัฒนาขึ้นมานี้ มีความไวในการตรวจวัดสาร อะฟลาทอกซิน มากกว่าแบบ scFv เปล่าๆ ถึง ๓ เท่า นอกจากนั้นแล้ว ผลจากโครงการวิจัยนี้ยังได้แสดงให้เห็นว่า คลังของแอนติบอดี ย่าโม ๑ ที่ผู้วิจัยได้พัฒนาขึ้นมานั้น มีคุณสมบัติเด่นกว่าคลังทั่วไป เพราะสามารถใช้เป็นแหล่งในการคัดหาแอนติบอดีต่อสารปนเปื้อนโมเลกุลเล็กทางการเกษตรที่มีคุณสมบัติดี ซึ่งอาจเป็นเพราะเป็นคลังที่สร้างขึ้นจากตัวอย่างที่เป็นคนไทยในแถบจังหวัดนครราชสีมา ซึ่งมีอัตราเสี่ยงต่อการบริโภคอาหารที่มี อะฟลาทอกซิน ปนเปื้อนสูง จึงอาจมีแอนติบอดีต่อสารนี้อยู่มาก กว่าคลังแอนติบอดีที่สร้างขึ้นจากประชากรในแถบอื่น หรือแบบกึ่งสังเคราะห์ ผลสำเร็จจากโครงการวิจัยนี้ นอกจากจะเป็นนวตกรรม ต่างๆ ได้แก่ ยีน และ แอนติบอดีที่จำเพาะเจาะจงต่อ อะฟลาทอกซิน วิธีการในการคัดหาแอนติบอดีจากคลัง และรวมทั้งวิธีการทางวิศวกรรมแอนติบอดี เพื่อพัฒนาคุณสมบัติให้มีประสิทธิภาพดี ในการนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารปนเปื้อนทางการเกษตร อื่นๆ ที่มีประสิทธิภาพสูง แล้ว ยังได้สร้างองค์ความรู้ใหม่ ซึ่งสามารถนำไป ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ ที่ต้องผ่านการประเมินโดยผู้ทรงคุณวุฒิอีกด้วย ซึ่งผลสำเร็จที่ได้ทั้งหมดนี้ สามารถนำไปพัฒนาต่อยอด ในการตรวจสอบสารปนเปื้อนทางการเกษตรอื่นๆ ทั้งที่เป็นสารโมเลกุลเล็ก และโมเลกุลใหญ่ ที่มีความสำคัญต่อผลผลิตทางการเกษตร ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ABSTRACT

250340

A unique human phage display library was used to successfully generate a scFv to the highly carcinogenic toxin aflatoxin B1. Such an antibody has major potential applications in therapy and diagnostics. To further exploit its analytical capacity, the scFv was genetically fused to alkaline phosphatase, thereby generating a novel and highly sensitive self-indicating reagent. The performance of this reagent was further characterized, demonstrating its efficacy. The sensitivity of scFv-AP fusion was three-fold better than that of the scFv form. The ability of this human library to generate antibodies to a small hapten was clearly demonstrated and this is linked to its intrinsic diversity, which exceeds many existing conventional human libraries. Our results indicate that demography may influence the diversity of the repertoire of the library in terms of its capacity to generate antibodies to specific targets. Equally, the approach demonstrated should also be applicable for other haptens and larger antigens. This research project generated not only innovations on the development of novel method to detect agricultural contaminants, but also a novel body of knowledge that could be published in a rigorous peer-review international journal. The outcome of this project could be future adapted for the research and development of diagnostic tools for various agricultural contaminants in the industrial level in the future.

สารบัญ

สารบัญภาพ 2

บทนำ 2

ความเป็นมา 2

วัตถุประสงค์ 3

ขอบเขตการวิจัย 4

ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย (Conceptual Framework) 4

วิธีการดำเนินการวิจัย 5

เนื้อเรื่อง 7

การทบทวนวรรณกรรม (reviewed literature) / สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง 7

เอกสารอ้างอิง 11

วิธีการดำเนินการวิจัย และ ผลการทดลอง 15

ข้อวิจารณ์ 26

สรุป และข้อเสนอแนะ 27

ภาคผนวก 28

ก. การเผยแพร่ผลงานทางวิชาการจากโครงการวิจัยนี้ 28

ก.๑ การตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการระดับนานาชาติที่มี peer review (impact factor 3.471) *28*

ก.๒ การนำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ *28*

ประวัตินักวิจัย 29

ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ 29