บทคัดย่อภาษาไทย

โครงการ การผลิตแอนติบอดีปรับแต่งพันธุกรรม เพื่อการตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา นี้ อันที่จริงเป็นโครงการที่วางแผนการดำเนินการเป็นระยะเวลา ๓ ปี แต่ได้รับการสนับสนุนในปีแรกเพียงปีเดียว แล้วต้องปิดโครงการไปก่อน แม้กระนั้น ผู้วิจัยยังสามารถดำเนินการวิจัยมาได้ระดับหนึ่ง จนได้ผลที่น่าสนใจมารายงาน โดยมีงานหลักที่ได้ทำ ๓ ส่วน ส่วนแรกเป็นการต่อยอดผลโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สวก ซึ่งผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการใช้เทคโนโลยีเฟจ ในการสร้างแอนติบอดีปรับแต่งพันธุกรรมต่อสารพิษจากเชื้อรา ๒ ชนิดคือ aflatoxin และ zearalenone ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่อยู่ในรูป scFv และ scFv-AP ในโครงการวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติแอนติบอดีในรูป scFv, scFv-AP, scFv-GFP, scFv-Fc และรูปแบบธรรมชาติคือ IgG ในการใช้ตรวจวัด mycotoxin โดยแอนติบอดีที่อยู่ในรูปแบบ scFv, scFv-AP, และ scFv-GFP นั้น ใช้สำหรับการตรวจสอบแบบ ELISA ส่วนแอนติบอดีแบบ scFv-Fc และ IgG นั้น ใช้ในการตรวจแบบ lateral flow หรือ strip test ซึ่งต้องมีการ conjugate antibody กับตัวให้สัญญาณ ที่เหมาะสม ผลการศึกษาในส่วนนี้ สรุปได้ว่า แอนติบอดีแบบ scFv-AP มีคุณสมบัติดีที่สุด ในการใช้ในการตรวจสอบบน ELISA plate สามารถผลิตออกมาจากระบบการผลิตใน *E. coli* ได้ แต่ยังอยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างต่ำ ส่วนแอนติบอดีในรูปแบบ IgG นั้นพบว่านั้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบแบบแถบวิเคราะห์ lateral flow หรือ strip test ได้ดี และสามารถผลิตออกมาได้ในปริมาณค่อนข้างสูง จากระบบการผลิตในเซลล์สัตว์ ส่วนที่ ๒ เกี่ยวของกับแอนติบอดีในรูปแบบ IgG ที่พบในธรรมชาติ และถูกใช้ประกอบเป็นชุดตรวจวิเคราะห์ ทางการค้าในปัจจุบัน โดยในงานวิจัยที่ผ่านมา ผู้วิจัยใช้ platform ของผู้ร่วมวิจัยในต่างประเทศในการผลิตแอนติบอดีแบบ IgG จึงมีข้อจำกัดในการใช้งาน โดยเฉพาะหากต้องการนำออกสู่เชิงพาณิชย์ ดังนั้นในส่วนที่ ๒ ของโครงการ ผู้วิจัยจึงต้องการที่จะสร้าง platform สำหรับการเปลี่ยนแอนติบอดีในรูปแบบ scFv ให้เป็น IgG ขึ้นในห้องปฏิบัติการเอง เพื่อนำไปใช้ในการศึกษา และผลิตชุดตรวจสอบสำหรับใช้ในประเทศในระยะยาวต่อไป ผลการดำเนินงานสรุปได้ว่าสามารถสร้าง platform ที่มีประสิทธิภาพในการผลิต IgG เพื่อใช้ตรวจสอบ mycotoxin ตามเป้าหมายของโครงการวิจัยได้สำเร็จ ในส่วนที่ ๓ ผู้วิจัยได้ริเริ่มทำงานวิจัยต่างๆ ที่จะเป็นพื้นฐานในการพัฒนาเทคนิคใหม่ๆ ในการใช้ประยุกต์ใช้แอนติบอดีประกอบเป็นชุดตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อน mycotoxin อย่างรวดเร็วและแม่นยำเพิ่มเติม ได้แก่ การทำ epitope mapping เพื่อหา mimotope ของ แอนติบอดี โดยใช้แอนติบอดีต่อ Aflatoxin และ Zearalenone เป็นต้นแบบ โดยผู้วิจัยสามารถค้นพบ mimotope ของทั้ง ๒ antibody จากการทำ biopanning ด้วย phage display peptide library SUT12 ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งหากทำการทดลองเพิ่มเติมต่อไป อาจนำไปใช้แทนที่ conjugated mycotoxins ในชุดตรวจสอบแบบ rapid test ทำให้ประหยัดค่าใช้จ่าย และปลอดภัยขึ้นด้วย นอกจากนั้นแล้วผู้วิจัยยังได้ริเริ่มลอง เชื่อม antibody กับตัวให้สัญญาณประเภท Silver nanocomposite โดยถือเป็นการริเริ่มความร่วมมือกับ อาจารย์รุ่นใหม่จาก มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ซึ่งผลงานในส่วนนี้ ยังอยู่ในช่วงต้นของการทดลอง ในเบื้องต้นพบว่าสามารถ conjugate ได้แล้ว แต่จะต้อง optimize สภาวะต่างๆ อีกหลายขั้นตอน ก่อนจะสามารถนำมาใช้ประกอบเป็นชุดตรวจสอบแบบรวดเร็วเพื่อใช้ตรวจวิเคราะห์ใน

พื้นที่จริงต่อไปได้ และท้ายสุด ผู้วิจัยได้พยายามริเริ่ม ใช้เทคนิค chain shuffling พัฒนาความแรงในการจับของแอนติบอดี โดยใช้แอนติบอดีจากหนูส่วน heavy chain มารวมกับ light chain แอนติบอดีมนุษย์จากโครงการนี้ แต่เมื่อรวมแล้วพบว่า แอนติบอดีทำงานไม่ได้คือไม่จับกับเป้าหมาย จึงต้องพัฒนาต่อด้วยวิธี guided selection คือเลือกคู่จาก library ของ light chain ทั้งหมดที่มีอยู่ ซึ่งอาจมีโอกาสสำเร็จ หากได้รับทุนสนับสนุนต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

This research project entitled "Development of recombinant antibody for the detection of mycotoxins" was originally planed for a period of 3-year. Unfortunately, the project was only supported for the first year; therefore, only the first part of the project is reported. Nevertheless, interesting results have been achieved. These results can be divided into 3 main parts. The first part is the continuation of the outputs from the research projects granted by ARDA, of which two recombinant antibodies against two mycotoxins, namely aflatoxin and zearalenone have been successfully created using phage display technology. These antibodies are in the form of scFv and scFv-AP. In this research project, the binding property of various formats of anti-mycotoxin antibodies, i.e., scFv, scFv-AP, scFv-GFP, scFv-Fc, and IgG, which is the natural form have been compared. The antibody in scFv, scFv-AP and scFv-GFP were investigated using ELISA-based method; while scFv-Fc and IgG were tested using lateral flow or strip test, of which the antibodies must be conjugated with appropriate tag. The results indicated that the scFv-AP performed the best in ELISA-based assay and can be produced from *E. coli* expression system at a relatively low level. For lateral flow or strip-test, the best performance format of antibody is IgG, which could be produced from animal expression system at a relatively high level. The second part of the project involved IgG, the form of antibody that is found in nature and currently use in all commercial test kits. In the previous work, the IgG was constructed using a platform of our international collaborators, which has limitation for further distributions and commercialization. Therefore, the second part of this project is focused on the development of our laboratory's platform for the conversion of scFv to IgG, which will be used for further studies as well as incorporation into test kits for commercial uses in Thailand. In summary of our results in the second part of the projects suggested that an effective platform for the production of IgG for mycotoxin detection has been successfully established. The third part of our project deals with various basic research experiments that can be used as the basis for the development of novel techniques for rapid point-of-detection of mycotoxin in the field. These include epitope mapping to identify mimotope of two model antibodies, namely anti-aflatoxin and anti-zearalenone. The mimotopes of both antibodies were successfully obtained using the laboratory's phage display random peptide library, named SUT12. These mimotopes could be further developed to replace conjugated mycotoxins in a rapid test kit, which can reduce the cost and increase safety. Next, we have initiated a collaborative research project with a

young staff from Ubon Ratchathani University, on the conjugation of recombinant antibody with silver nanocomposite. This project is ongoing. So far, we successfully conjugated our recombinant antibody with the nanomaterial, but various conditions must be optimized before it can be used in a rapid test kit. Finally, we have also tried to implement chain shuffling technique to further increase binding affinity of our antibody by joining the heavy chain of mouse antibody with the light chain of human antibody. However, we found that even though we could successfully join them, but the antibody couldn't bind to the target anymore. Therefore, new strategy based on guided selection technique, of which a library of human light chain must be tested, should be attempted, providing acquisition of adequate funding.