

สุกัญญา ผลพิมาย: การผลิตและการแสดงคุณลักษณะของ MuscFv ต่ออะคริลาไมด์ใน
กาแฟ (PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF MURINE SINGLE-CHAIN
VARIABLE FRAGMENT (MuscFV) ANTIBODY AGAINST ACRYLAMIDE IN COFFEE)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ดร.กัญญารัตน์ ถึงอินทร์ ,146หน้า

คำสำคัญ: สารอะคริลาไมด์/เฟจ/ MuscFv/แอนติบอดี

อะคริลาไมด์ (AA) พบว่าเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในอาหาร โดยเฉพาะอาหารจำพวกน้ำตาล
และแป้งที่ผ่านกระบวนการปรุงที่อุณหภูมิสูงจะก่อเกิดอะคริลาไมด์ในอาหารได้ นอกจากนี้ยังพบว่า
อะคริลาไมด์เป็นสารก่อมะเร็งที่เป็นอันตราย เป็นพิษต่อระบบประสาท เป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์ และ
เป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการสร้างแอนติบอดีต่ออะคริลาไมด์เพื่อจุดประสงค์
ในการตรวจจับสารปนเปื้อนอะคริลาไมด์ในกาแฟ

ในการวิจัยครั้งนี้ ทำการคัดเลือกหาเฟจจากคลังแอนติบอดี เพื่อการคัดเลือกเฉพาะ antibody
ส่วน single chain fragment variable (scFv) ที่จำเพาะต่ออะคริลาไมด์จากคลังแอนติบอดีของหนู
(MuscFv) ผู้วิจัยใช้สารอะคริลาไมด์มาตรฐาน (AA) เป็นแอนติเจนสำหรับการคัดเลือกแบคทีเรียเฟจ
ซึ่งการคัดเลือกหาเฟจจากคลังแอนติบอดีของหนูนั้นจะสามารถแสดงออกถึงแอนติบอดีเป้าหมายใน
E. coli ได้ หลังจากนั้นได้มีการนำมาคัดแยก scFv แอนติบอดีที่จำเพาะต่ออะคริลาไมด์ ยืนยัน
ความจำเพาะด้วยเทคนิค Western blot และทดสอบการจับกันด้วยเทคนิค ELISA รวมถึงได้รับการ
ทดสอบการเกิดปฏิกิริยาข้ามกับ BSA แล้วนั้น ทำให้การสร้างแอนติบอดี (MuscFv) ของหนูที่จำเพาะ
ต่ออะคริลาไมด์ในกาแฟถูกสร้างขึ้นสำเร็จแล้ว และตรวจสอบได้โดยวิธี ELISA และ HPLC

การสร้างคลังข้อมูลของชิ้นส่วนแอนติบอดีรีคอมบิแนนท์ที่แสดงบนพื้นผิวของแบคทีเรียเฟจ
เพื่อการคัดเลือกหาเฟจจากคลังแอนติบอดีต่อแอนติเจนเป้าหมาย เป็นเครื่องมือทางเทคโนโลยีชีวภาพ
ที่สำคัญในการสร้างแอนติบอดีโมโนโคลนัล ซึ่งการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกที่ได้อธิบายถึงการ
คัดเลือกแอนติบอดีต่ออะคริลาไมด์จากคลังข้อมูลแอนติบอดีของหนู และสามารถตรวจจับอะคริลา
ไมด์ในกาแฟได้

สาขาวิชาเวชศาสตร์ปริวรรต
ปีการศึกษา 2566

รายชื่อชื่อนักศึกษา *Sikanya*
รายชื่อชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *Kanyard T.*
รายชื่อชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม *Jeeraphong T.*
รายชื่อชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม *T. Sam*
รายชื่อชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... *[Signature]*

SUKANYA PONPHIMAI: PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF MURINE SINGLE-CHAIN VARIABLE FRAGMENT (MuscFv) ANTIBODY AGAINST ACRYLAMIDE IN COFFEE. THESIS ADVISOR: Dr. KANYARAT THUENG-IN ,140 page PP.

Keyword: Acrylamide/Phage bio-panning/ MuscFv/Antibody

Ingredients of food, especially sugar and starch at high temperature cooking process could lead to the formation of acrylamide (AA). This chemical is harmful carcinogens, a neurotoxicant, reproductive toxicant, and carcinogen in animal species. However, the detection of acrylamide contaminated in food is unnoticed.

In this work, Phage bio-panning was performed in order to select scFv specific to acrylamide from murine scFv (MuscFv) phage-displayed library. Acrylamide standard (AA) used as antigen for bio-panning and was expressed in *E. coli* system. Several scFvs were isolated and specificity towards acrylamide was confirmed by Western blot and the binding tested by ELISA. The anti-AA MuscFv phage clones did not show any cross-reactivity with BSA from bio-panning process. Further, biochemical and functional investigations demonstrated that the binding of specific MuscFv with acrylamide. Moreover, we tested the anti-AA MuscFv specific to acrylamide could detect acrylamide in coffee using ELISA and verified by High- performance liquid chromatography (HPLC).

The construction of libraries of recombinant antibody fragments that are displayed on the phage surface. The selection of phage antibodies against target antigens has become an important biotechnological tool to generate novel monoclonal antibodies for research. For the first time, this study describes the selection of antibodies against acrylamide from murine scFv phage-displayed library which can detect acrylamide in coffee.

School of Translational Medicine
Academic Year 2023

Student's Signature
Advisor's Signature
Co-advisor's Signature
Co-advisor's Signature
Co-advisor's Signature