บทคัดย่อภาษาไทย

มะเร็งเม็ดเลือดขาวไมอีลอยด์ชนิดเฉียบพลัน AML เป็นโรคมะเร็งเม็ดเลือดแบบเฉียบพลันที่พบได้มากที่สุด แม้ในปัจจุบันจะมีวิธีการรักษาแบบ chemotherapy และการปลูกถ่าย stem cell ที่มีประสิทธิภาพ แต่ผู้ป่วยด้วยโรคนี้ ยังมีอัตราการตายสูง ดังนั้นจึงเป็นความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องคิดค้น พัฒนาวิธีการรักษาแบบใหม่ที่มุ่งเป้าไปยังโมเลกุลจำเพาะในเซลล์เป้าหมายที่เป็นเซลล์ก่อโรคที่แท้จริง เพื่อลดอาการข้างเคียงของยาซึ่งมีอันตรายสูง และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการรักษาได้มากขึ้น หนึ่งในวิธีการที่มีประสิทธิภาพคือ antibody therapy หรือวิธีการกำจัดเซลล์มะเร็งด้วยวิธีจับแบบจำเพาะโดยใช้แอนติบอดี ในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้ทำการสร้างคลังเฟจแอนติบอดี โดยใช้เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวไมอีลอยด์ชนิดเฉียบพลันเป็นต้นแบบในการเพิ่มจำนวนยีนแอนติบอดี เรียกคลังที่ได้สร้างขึ้นนี้ว่า Yamo-AML โดยใช้ cell line AML ชนิด HL-60 ซึ่งแยกมาได้จากผู้ป่วย เป็นเซลล์เป้าหมายในการทำการคัดเลือกหาแอนติบอดีที่จำเพาะ ผลการวิจัย พบว่าสามารถคัดเลือกเฟจที่แสดงแอนติบอดีที่จับต่อเซลล์เป้าหมาย HL-60 ได้ แต่เมื่อเปลี่ยนเป็นชิ้นส่วนแอนติบอดีอิสระ scFv พบว่าแอนติบอดีนี้กลับไม่สามารถจับกับเซลล์เป้าหมาย ดังนั้นจึงได้ทำการคัดหาแอนติบอดี จากคลังที่สร้างจากเม็ดเลือดขาวของคนปกติ คือคลัง ย่าโม๑ แทน และสามารถคัดหาแอนติบอดีได้ 2 โคลน ซึ่งเมื่อนำแอนติบอดีทั้ง 2 มาตรวจสอบความแรงในการจับเซลล์เป้าหมายด้วยวิธีการ FACS พบว่าแอนติบอดีโคลน 152 หรือ scFv-152 แสดงความสามารถในการจับได้ดีกว่า ผู้วิจัยจึงได้เลือกใช้แอนติบอดีโคลน scFv-152 นี้ ในการทดสอบคุณสมบัติทางชีววิทยาต่อเซลล์เป้าหมายต่อไป โดยผู้วิจัยสามารถผลิตแอนติบอดี scFv-152 จากแบคทีเรีย *E. coli* ได้ในปริมาณมาก ซึ่งเมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีววิทยา และความจำเพาะต่อเซลล์ พบว่าแอนติบอดี scFv-152 สามารถจับแบบจำเพาะต่อเซลล์ HL60 เท่านั้น และเมื่อทดสอบความสามารถในการเข้าไปในเซลล์ HL-60 พบว่าชิ้นส่วนแอนติบอดี scFv152 สามารถเข้าไปในเซลล์ได้ นอกจากนั้นแล้วผู้วิจัยยังได้ทำการศึกษาพบว่า แอนติบอดี scFv-152 ที่สร้างขึ้นได้จากโครงการวิจัยนี้ มีคุณสมบัติที่น่าสนใจคือ สามารถจับเฉพาะกับเซลล์ HL-60 ระยะตัวอ่อนเท่านั้น โดยเมื่อได้ทำการการดัดแปลงทางพันธุวิศวกรรมแอนติบอดี ให้ชิ้นส่วนแอนติบอดี scFv-152 เชื่อมเข้ากับโปรตีนเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์สีเขียวได้เป็นโมเลกุลแอนติบอดี scFv-152-GFP แล้วผลิตออกมาจากแบคทีเรีย *E coli* พบว่าสามารถนำไปใช้ย้อมเซลล์ HL-60 ให้เรืองแสงได้ จากการตรวจสอบภายใต้กล้องฟลูออเรสเซนส์ โดยสรุป ผู้วิจัยสามารถผลิตแอนติบอดีปรับแต่งพันธุกรรมที่มีคุณสมบัติที่น่าสนใจ 1 ชนิดคือ แอนติบอดี scFv-152 ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงมาก คือจับจำเพาะกับเซลล์ AML ชนิด HL-60 ในระยะที่เป็นตัวอ่อน (immature) เท่านั้น และเมื่อจับแล้ว แอนติบอดีสามารถเคลื่อนเข้าไปในเซลล์ได้ ผู้วิจัยจะได้ทำการจดสิทธิบัตรแอนติบอดีนี้ เพราะมีศักยภาพในการนำไปเป็นยารักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวแบบมุ่งเป้าได้ นอกจากนั้นแล้ว ยังอาจนำเอาไปใช้ในการศึกษาโครงสร้างและหน้าที่ และกลไกการเจริญเติบโตและพัฒนาเซลล์ในระบบโลหิต และระบบภูมิคุ้มกันของมนุษย์ต่อไปได้

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Acute myeloid leukemia (AML) is the most common type of acute leukemia in adults. Depsite current effective treatment procedure involving chemotherapy and stem cell transpantaion, AML is still highly fatal disease. Thefore, there is a need for target-based therapy for more specific, less toxic drugs. One of the efficient methods is antibody therapy which involve the use of specific monoclonal antibdody against AML cells. In this research, a phage display-antibody library, designated Yamo-AML, was constructed using blood of AML patients as tempates for amplifying antibody genes. The AML cell line HL-60, which as isolated from AML patient, was used as a target cell for affinity selection (biopanning) of phage displayed antibody. Our results indicated that phage displayed antibodies against HL-60 could be isolated from the library; however, when the antibody was converted into soluble scFv form, it couldn't bind the the target cell anymore. Consequntly, another phage display-antibody library, which was constructed from healthy people, designated Yamo I library, was used for biopanning instead. From Yamo I library, 2 clones of phage displayed antibody specific to HL-60 were isolated. Out of these 2 clones, one clone, designated scFv-152, that showed better binding affinity by fluoresecent-activated cell sorting (FACS) analysis was selected for further analysis. The scFv-152 antibody could be produced at a relative high amount from *E. coli* expression system. Biological assay of scFv-152 aginst cell lines indicated that this scFv-152 antibody could specifically bind only to HL-60 cell lines but didn't cross-react to another cell lines. In addition, it could be internalized upon binding to the cell. Moreover, we found that this antibody could bind only to the pre-matured HL-60 cells because it could not bind to the HL-60 cell after differentiation induction. When the scFv-152 was engineered to fused with green fluorescent protein, scFv-152-GFP, this antibody could be used to stain HL-60 cell line when observed under fluorescent microscope. In conclusion, one specific recombinant antibody against AML cell line HL-60, i.e., scFv-152, could be generated using phage display antibody technology. This antibody could bind specifically to undifferentiated HL-60 cell and internalized. The information of antibody will be patented as it has potential to be developed for target-based therapy against AML. Moreover, it can slos be used as a powerful tool for the study of human hematopoietic and immunological systems.