บทคัดย่อภาษาไทย

ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการพัฒนาและประยุกต์ใช้เทคนิคทางวิศวกรรมแอนติบอดี (antibody engineering) ในการผลิตแอนติบอดีสำหรับการทำให้ภาพทางชีววิทยาปรากฏ (bio-imaging) โดยได้ทำการพันธุวิศวกรรมเพื่อสร้างเวคเตอร์สำหรับผลิตแอนติบอดี ให้ยีนของแอนติบอดีแบบสายเดี่ยวเชื่อมต่อกับโปรตีนเรืองแสงสีเขียว (scFv-GFP) จากนั้น นำไปผลิตในแบคทีเรีย อี โคไล ๓ ชนิด พบว่า สามารถผลิตได้ดี และสามารถทำให้บริสุทธิ์ได้โดยการใช้วิธีการโครมาโตกราฟีแบบจับจำเพาะ จากนั้นนำไปใช้ทำให้ภาพทางชีววิทยาปรากฏ บนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว และเซลล์แบคทีเรีย แล้วตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง พบว่าใช้ได้ดี โดยในเซลล์มะเร็งนั้นสามารถใช้ดูได้ทั้งตอนที่จับกับด้านนอกเซลล์ และเมื่อเคลื่อนเข้าไปในเซลล์ แต่อย่างไรก็ตามมีปัญหาคือสีจางเร็วมาก จึงได้ลองปรับวิธีการตรวจสอบ โดยการใช้แอนติบอดีตัวที่สองที่สามารถเรืองแสง และสามารถการจับจำเพาะกับกรดอะมิโน ฮิสตีดีน ๖ ตัวต่อกัน ที่ติดอยู่ด้านท้ายของแอนติบอดีสายเดี่ยวแทน พบว่าได้ผลดีมาก โดยนอกจากสามารถใช้ดูเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสงแล้ว ยังสามารถใช้ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน และตรวจสอบโปรตีนในเซลล์ด้วยวิธีการ westernblot รวมทั้งสามารถใช้ตรวจสอบการจับกับผิวเซลล์ ด้วยวิธีการ ตรวจบนจานพลาสติก (ELISA) และเครื่องวัดแบบให้เซลล์ไหลผ่าน (Flow cytometer) ได้อีกด้วย ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้เป็นอย่างดี ผลงานวิจัยอยู่ในระหว่างการส่งไปตีพิมพ์ ๒ เรื่อง และเตรียม ยื่นจดสิทธิบัตรอีก ๑ เรื่อง ดังนั้นในรายงานนี้ ในส่วนวิธีการและผลการทดลองจึงได้เขียนรายงานเป็นภาษาอังกฤษ นอกจากนั้นแล้วโครงการวิจัยนี้ ยังได้ใช้ประกอบการฝึกฝน สร้างการเรียนรู้ให้ นักศึกษาและนักวิจัยในห้องปฏิบัติการ ไม่ต่ำกว่า ๖ คน และผลงานวิจัยนั้น สามารถนำไปใช้ต่อยอดในการศึกษาภาพทางชีววิทยาได้อีกอย่างกว้างขวาง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Antibody engineering was successfully employed for bio-imaging application. Firstly, the expression vector for the generation of scFv-GFP fusion was constructed. Then, the recombinant expression vector was successfully expressed in three different *E. coli* hosts and purified by immobilized affinity chromatography (IMAC). After that they were used for bio-imaging of acute myeloid leukemia (AML) and bacterial cells, and observed with confocal fluorescent microscope. Endocytosis of scFv upon biding to the surface of lived AML cells could also be ovserved. However, their was a fading problem of the signal; therefore, another method for bio-immaging was investigated. In this second method, a fluorescent-conjugated anti-6xHis antibody was used as a secondary antibody to detech 6xHis tagged scFv and the results indicated that a good signal could be observed using this method. Moreover, in addition to fluorescent microscopy, this method can also be used for bioimaging using electron microscopy and other imaging techniques including the detection of cellular proteins by westernblot analysis, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as well as cell surface staining and analysis using flow cytometry. Thefore, it can be concluded that this research project was accomplished according to the planned objectives. The results of this research are being prepared for publication in 2 internation peer-review journal with good impact factor and 1 patent application. Accordinlgy, the materials and methods of this report is written in English. In addition to publications, this research project was also used to train at least 6 students and researchers in the laboratory. The output of the research can be applied for a wide variety of bio-imaging applications in the future.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี