

บทคัดย่อภาษาไทย

โครงการ การผลิตสารชีวผลิตภัณฑ์ต้นแบบจากระบบการแสดงออกของยีนในเซลล์สัตว์ นี้ อันที่จริงเป็นโครงการที่วางแผนการดำเนินการเป็นระยะเวลา ๓ ปี แต่ได้รับการสนับสนุนในปีแรกเพียงปีเดียวแล้วต้องปิดโครงการไปก่อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงสามารถรายงานความสำเร็จเฉพาะในขั้นตอนแรก คือการผลิตต้นแบบยารักษามะเร็งแบบมุ่งเป้าที่ออกฤทธิ์ต่อโมเลกุลที่ทำหน้าที่ยับยั้งกลไกควบคุมภูมิคุ้มกัน ชื่อ อีพิลิอูแมบ (Ipilimumab) ชื่อการค้า เยอร์วอย (YERVOY®) ซึ่งมีราคาสูงมาก สามารถใช้ในรักษาแบบภูมิคุ้มกันบำบัด ร่วมกับแนวทางการรักษาอื่น ในโรคมะเร็งระยะร้ายแรง โดยงานวิจัยเริ่มต้นจากการออกแบบเวกเตอร์ และยีน สำหรับการผลิตยาแอนติบอดี ในรูปแบบ อิมมูโนโกลบูลิน ๑ (IgG1) จากนั้นทำการวิเคราะห์ของลำดับ ยีนและกรดอะมิโน แล้วจึงนำเวกเตอร์ไปนำส่งเข้าสู่เซลล์มนุษย์ HEK293 เพื่อให้ผลิตโดยการหลั่งออกมาในน้ำเลี้ยงเซลล์ จากนั้น นำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการโครมาโตกราฟี แล้วนำมาวิเคราะห์โครงสร้างด้วยวิธีแยกด้วยไฟฟ้าผ่านเจล จากนั้นในขั้นตอนสุดท้าย นำไปทดสอบในการจับกับเป้าหมายของยา คือโปรตีน CTLA-4 โดยผู้วิจัยได้พัฒนาวิธีการทดสอบการจับเป้าหมายอย่างง่าย ด้วยวิธีการ อีไลซ่า (ELISA) ซึ่งประสบผลสำเร็จ อีกทั้งพบว่า ยาที่ผลิตขึ้นมาได้สามารถจับกับเป้าหมายได้ดี ดังนั้นยานี้จึงสามารถใช้เป็นต้นแบบเพื่อ ผลิตในจำนวนมากขึ้น ทั้งจากเซลล์ HEK293 หรือ เซลล์ CHO เพื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติความคล้ายคลึงกับยาต้นแบบ (biosimilar) หรืออาจนำไปพัฒนาต่อเพื่อพัฒนาเป็นยาในกลุ่ม biobetter โดยผ่านการทดลองตามลำดับขั้น ตั้งแต่การทดลองในหนูทดลอง ไปจนถึงการทดลองทางคลินิกในชั้นต่าง ๆ ต่อไป นอกจากนี้ผลผลิตคือต้นแบบยารักษามะเร็งที่ออกฤทธิ์ผ่านระบบภูมิคุ้มกัน อีพิลิอูแมบแล้ว ผลลัพธ์ที่ได้จากโครงการนี้ คือการสร้าง บุคลากร และเทคโนโลยีฐาน สำหรับการผลิตยาในกลุ่มภูมิคุ้มกันบำบัดเพื่อรักษาโรคมะเร็งอื่น ๆ ต่อไปด้วย

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

This research project entitled "Production of prototype biologic from gene expression system in mammalian cell" was originally planned for a period of 3-year. Unfortunately, the project was only supported for the first year; therefore, this is the report of the outputs from the first budget year. In this research project, a prototype of anti-cancer target-based therapy in the group of immune checkpoint inhibitor, i.e., Ipilimumab (Yervoy), which is extremely expensive, was successfully generated. The research project started with the design and construction of appropriate expression vector for the production of the biologic drug in the form of immunoglobulin IgG1. After the integrity of the constructs was confirmed by automated DNA sequencing and amino acid sequence analysis, the expression vectors were transfected into human embryonic kidney cell (HEK293) for the secretory production into culture media. After that, the secreted antibody was purified by affinity chromatography and analyzed by sodium dodecyl sulfate poly acrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Finally, an ELISA-based method for the detection of specific binding between the antibody and its target, i.e., CTLA-4 was optimized and established. The ELISA results indicated that the prototype Ipilimumab can bind well to its target; hence, the aim of this project to generate the drug prototype is accomplished. The outputs from this project can be used as the basis for further investigation which will involve the production in a larger scale either in HEK293 or CHO cells for biosimilarity testing or further development into biobetter drug. Then, various steps of drug development process, ranging from animal testing to different clinical trial stages, must be carried out. In addition to generating immune checkpoint inhibitor, Ipilimumab, drug prototype, the outcome of this research is the creation of human resources and platform technology for the manufacturing immunotherapeutic drugs for cancer treatment in the future as well.