



30 JUL 1992

ISOLATION OF PURIFIED OVARIAN CANCER ANTIGENS VERIFYING
SPECIFIC ACTIVITY WITH ESTABLISHED MONOCLONAL ANTIBODIES

LEATCHAI WACHIRUTMANGGUR

N

อธิบดีมหาวิทยาลัย

๑๓

เลตชัย วาชิรุตมanggur

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(BIOCHEMISTRY)

IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1992

19172

ชื่อวิทยานิพนธ์	การแยกแอนติเจนที่บริสุทธิ์ จากมะเร็งรังไข่ที่มีความจำเพาะกับ โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตขึ้น
ผู้วิจัย	เลิศชาย วชิรุตมางกูร
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีวเคมี)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	นิโลบล เนื่องตัน, พ.บ. ปรีมเจเนียง มุ่งการดี, Dr. rer. nat.
วันที่สำเร็จการศึกษา	4 พฤษภาคม พ.ศ. 2535

บทคัดย่อ

OVS1-Antigen (OVS1-Ag) เป็นแอนติเจนของมะเร็งรังไข่ที่มีความจำเพาะต่อ OVS1 monoclonal antibody (OVS1-MAb) ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่ผลิตได้ใหม่ขึ้นสามารถที่สกัดได้จากก้อนมะเร็งรังไข่ของผู้ป่วยชนิด mucinous cystadenocarcinoma โดยการใช้น้ำล้างล้างเนื้อเยื่อ (sonication) หรือ สารละลาย 0.5% triton x-100 ในน้ำละลาย ฟอสเฟต การแยกแอนติเจนให้บริสุทธิ์ทำได้โดยการนำน้ำสกัดก้อนมะเร็ง (crude tumor extract) ที่ได้ในขั้นแรกผ่าน affinity chromatography 3 ชนิด เรียงตามลำดับคือ concanavalin A sepharose 4B column และ cyanogen bromide activated sepharose 4B ที่เชื่อมกับแอนติบอดีต่อแอนติเจนทั่วไปในซีรัมของคนปกติ ตามด้วยที่เชื่อมกับแอนติบอดีต่อแอนติเจนของรังไข่ปกติ, จากนั้นจึงนำแอนติเจนบริสุทธิ์ที่แยกได้มาศึกษาโดยการทำ SDS-PAGE และ Western blot พบว่ามีความจำเพาะต่อ OVS1 MAb ที่ได้ผลิตขึ้น และเป็นกลัยโคโปรตีนที่มีน้ำหนักอณูประมาณ 29 kD, จากการทดสอบโดยวิธี ELISA ได้ยืนยันปฏิกิริยาจำเพาะระหว่าง OVS1-Ag และ OVS1 MAb แต่ไม่เกิดปฏิกิริยากับแอนติเจนของชิ้นเนื้อรังไข่ปกติหรือน้ำเหลืองคนปกติ, นอกจากนี้ยังพบว่าไม่มีปฏิกิริยาระหว่าง OVS1-Ag กับโมโนโคลนอลแอนติบอดีชนิดอื่น, ความสำคัญทางคลินิกในการตรวจหา OVS1-Ag ในซีรัมและสารน้ำต่าง ๆ ในช่องท้องและช่องอก ของร่างกายเพื่อใช้เป็นสารบ่งชี้มะเร็งรังไข่ใหม่ขึ้น จำเป็นต้องมีการศึกษาค้นคว้าต่อไป เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์

Thesis Title Isolation of Purified Ovarian Cancer Antigens
 Verifying Specific Activity with Established
 Monoclonal Antibodies.

Name Leatchai Wachirutmanggur

Degree Master of Science (Biochemistry)

Thesis Supervisory Committee

 Neelobol Neungton, M.D.

 Primchanien Moongkarndi, Dr. rer. nat

Date of Graduation 4 May B.E. 2535 (1992)

ABSTRACT

OVS1-Antigen (OVS1-Ag), a tumor associated antigen recognized by newly established OVS1 monoclonal antibody (OVS1 MAb), was extracted from fresh surgical mucinous cystadenocarcinoma of human ovary by sonication or 0.5% triton x-100 in PBS. Subsequently the crude extract was purified by three affinity chromatographies, concanavalin A sepharose 4B, antinormal human serum and antinormal human ovary coupled to cyanogen bromide activated sepharose 4B. The characterization of OVS1-Ag by SDS-PAGE and Western blot demonstrated specific reactivity of the OVS1 MAb with the 29 kD glycoprotein. The data from ELISA showed the specific reaction between purified OVS1-Ag and OVS1 MAb but no reaction with antigens from normal ovarian extract or normal serum. Also no cross reaction between OVS1-Ag and other unrelated MAbs was confirmed. The clinical significance of OVS1-Ag as a new tumor marker requires further study.