

Thesis Title	Biological Activity Assessment of Single Chain Fv M6-1B9 Against CD147 as Soluble and Intrabody Forms	
Author	Mr. Khajornsak Tragoolpua	
Degree	Doctor of Philosophy (Biomedical Science)	
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Chatchai Tayapiwatana	Chairperson
	Prof. Dr. Watchara Kasinrerak	Member
	Dr. Nutjeera Intasai	Member
	Prof. Dr. Andre Lieber	Member

ABSTRACT

CD147 has been implicated in various physiological and pathological processes. It is involved in signal transduction pathways and also plays a crucial role in the invasive and metastatic activity of malignant tumor cells. Diminished expression of this molecule has been shown to be beneficial in suppression of tumor progression. In this study, we aimed to generate and characterize a recombinant antibody fragment, scFv, which reacted specifically to CD147. Phage display technology was introduced to generate the functional antibody fragment to CD147, and we subsequently constructed a CD147-specific scFv that was expressed intracellularly and retained in the endoplasmic reticulum by adenoviral gene transfer. The biological properties, function and the effect of generated scFv on CD147 expression were investigated. The result showed that recombinant antibody

fragments, Fab and scFv, of the murine monoclonal antibody (clone M6-1B9) reacted specifically to CD147 by indirect ELISA using a recombinant CD147-BCCP as a target. We further studied the function of soluble scFv-M6-1B9 produced from *E. coli* HB2151. The results demonstrated that it was able to bind with CD147 surface molecule of U937 and inhibited OKT3-induced T cell proliferation. Furthermore, soluble lysate of scFv-M6-1B9 from 293A cells, transduced with a scFv-M6-1B9 expressing adenovirus vector, recognized both recombinant and native CD147. These results indicate that scFv-M6-1B9 binds with high efficiency and specificity. Importantly, scFv-M6-1B9 intrabody reduced the expression of CD147 on the cell surface of 293A, Jurkat and HeLa cells, suggesting that scFv-M6-1B9 is biologically active intrabody. In conclusion, our present study demonstrated that scFv-M6-1B9 has a great potential to target both the intracellular and the extracellular CD147. This study represents a step toward understanding the role of the CD147 cell surface protein and may aid in efforts to develop a novel treatment for a variety of metastatic tumors in the near future.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การประเมินแอกติวิตีทางชีวภาพของซิงเกิลเซนเอฟวี
เอ็ม 6-1 บี 9 ต่อซีดี 147 ที่สร้างอยู่ในรูปสารละลายและ
ในรูปของอินทราบอดี

ผู้เขียน

นายขจรศักดิ์ ตระกูลพั้ว

ปริญญา

วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชีวการแพทย์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์



รศ. ดร. ชัชชัย ตะยาภิวัฒนา

ประธานกรรมการ

ศ. ดร. วิชระ กสิณฤกษ์

กรรมการ

อ. ดร. ณัฐจิรา อินตะใส

กรรมการ

Prof. Dr. Andre Lieber

กรรมการ

บทคัดย่อ

CD147 มีบทบาทเกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรและพยาธิสภาพของเซลล์ กระบวนการส่งสัญญาณเข้าสู่เซลล์ และยังมีความสำคัญเกี่ยวข้องกับการลุกลามและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ดังนั้นการลดการแสดงออกของโมเลกุล CD147 อาจมีประโยชน์ต่อการยับยั้งความก้าวหน้าในการเจริญของเซลล์มะเร็ง ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างและศึกษาคุณสมบัติของ scFv-M6-1B9 แอนติบอดีต่อ CD147 โดยใช้เฟจดีสเพลย์เทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้ในการสร้างแอนติบอดีต่อ CD147 จากนั้นได้ทำการสร้าง scFv-M6-1B9 แอนติบอดีต่อ CD147 ให้มีการแสดงออกและยังคงทำหน้าที่อยู่ภายในระบบของเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมโดยใช้ระบบการนำส่งยีน ด้วยอะดิโนไวรัส และได้ประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพ หน้าที่ และผลของ scFv-M6-1B9 ต่อการแสดงออกของ CD147 จากการศึกษาพบว่ารีคอมบิแนนท์ Fab- และ scFv-M6-1B9 แอนติบอดีต่อ CD147 สามารถจับได้อย่างจำเพาะกับรีคอมบิแนนท์ CD147-BCCP ด้วยวิธี indirect ELISA และเมื่อทำการศึกษาน้ำที่ของ scFv M6-1B9 แอนติบอดีที่อยู่ในรูปสารละลายที่ผลิตจากแบคทีเรีย *E. coli* HB2151 พบว่ามีความสามารถในการจับกับ CD147 ที่แสดงออกบนผิว

เซลล์ U937 และยับยั้งการแบ่งตัวของเม็ดเลือดขาวชนิดทีเซลล์เมื่อถูกกระตุ้นร่วมกับ OKT3 แอนติบอดี นอกจากนั้นแล้ว scFv M6-1B9 แอนติบอดีที่ได้จากการแตกเซลล์ 293A ที่ถูก transduced ด้วยอะดีโนไวรัสที่กำหนดการสร้าง scFv M6-1B9 แอนติบอดีสามารถจับกับ CD147 ได้ทั้งในรูปแบบที่พบตามธรรมชาติและรูปแบบรีคอมบิแนนท์ที่สร้างขึ้น ซึ่งบ่งชี้ถึงความมี ประสิทธิภาพและความจำเพาะอย่างสูงในการจับกับแอนติเจน ที่สำคัญอย่างยิ่งคือ scFv M6-1B9 อินทรานอติได้แสดงให้เห็นถึงความมีคุณสมบัติทางชีวภาพที่ดี โดยสามารถลดการแสดงออกของ CD147 ที่ผิวของเซลล์ 293A, Jurkat และ HeLa ได้ จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า scFv M6-1B9 มีศักยภาพที่ดีในการจับกับ CD147 ทั้งภายในและภายนอกเซลล์ ซึ่งจะช่วยให้เข้าใจบทบาท และหน้าที่ของ CD147 มากขึ้นและอาจใช้ในการพัฒนาวิธีการรักษามะเร็งชนิดแพร่กระจายรูปแบบ ใหม่ได้ในอนาคต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved