

วิภาวี ทองศรี 2552: การผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อ *Cymbidium Mosaic Virus* และการตรวจสอบทางซีรัมวิทยา ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ เกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา  
 ประชานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชนี้ สงประยูร, Ph.D. 85 หน้า

*Cymbidium mosaic virus* (CymMV) เป็นไวรัสที่เข้าทำลายกล้วยไม้และพบการแพร่ระบาดมากที่สุดในโลก วิธีการตรวจวินิจฉัยที่มีประสิทธิภาพจึงเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการตรวจสอบส่วนขยายพันธุ์กล้วยไม้ปลอดโรค งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อ CymMV และพัฒนาวิธี ELISA สำหรับการตรวจสอบ จากการเชื่อมเซลล์มัยอิโคมากับเซลล์ม้ามของหนูเม้าส์และคัดเลือกไฮบริโดมาที่ผลิตแอนติบอดีต่อเชื้อ CymMV ได้ไฮบริโดมาจำนวน 4 โคลน คือ Cy1, Cy2, Cy3 และ Cy4 ซึ่งทุกโคลนผลิตแอนติบอดีที่มีความจำเพาะสูงกับเชื้อ CymMV โดยไม่ทำปฏิกิริยากับไวรัสชนิดอื่นและพืชปกติ ในการตรวจสอบเชื้อ CymMV โดยเปรียบเทียบวิธี indirect, direct และ sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) พบว่า วิธี indirect PTA-ELISA มีความไวในการตรวจสอบสูงสุด คือสามารถตรวจเชื้อได้ถึงระดับ 0.25 นาโนกรัม การเปรียบเทียบความแม่นยำของวิธีทางซีรัมวิทยาที่พัฒนาขึ้นกับชุดตรวจสอบทางการค้า GLIFT kit โดยใช้ตัวอย่างจากต้นกล้วยไม้หวายมาตามและเนื้อเยื่อกล้วยไม้จำนวน 30 ตัวอย่าง พบว่าวิธี 3 วิธี ตรวจพบเชื้อ CymMV เท่ากัน จำนวน 23 ตัวอย่าง คิดเป็น 76.67% ของตัวอย่างทั้งหมด โดยครึ่งหนึ่งของจำนวนนี้ตรวจพบการสะสมของเชื้อ CymMV ที่รากมากกว่าที่ใบอ่อน จากผลการวิจัยพบว่าวิธีทางซีรัมวิทยาที่พัฒนาขึ้นโดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่มีคุณภาพดี มีความจำเพาะเชื้อ CymMV สูง สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบกล้วยไม้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Wipawee Thongsri 2009: Production of Monoclonal Antibodies against *Cymbidium Mosaic Virus* and Serological Detection. Master of Science (Agricultural Biotechnology), Major Field: Agricultural Biotechnology, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Assitant Professor Ratchanee Hongprayoon, Ph.D. 85 pages.

*Cymbidium mosaic virus* (CymMV) is the most prevalent virus infecting orchids worldwide. Reliable detection method is required to investigate for virus-free orchid propagation materials. This study aimed to produce monoclonal antibodies (MAbs) against CymMV and develop the detection protocol in ELISA format. Four hybridoma cell lines producing anti-CymMV antibodies were obtained from fusions namely Cy1, Cy2, Cy3 and Cy4. All of them were highly specific to CymMV and no cross reaction with other plant viruses or healthy sap was observed. Comparison of direct, indirect and sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of CymMV demonstrated that indirect PTA-ELISA gave highest sensitivity which as low as 0.25 ng virus could be detected. Thirty young leaf and root samples from *Dendrobium* spp. and tissue culture were used in the experiment to compare the efficiency of our developed ELISA with commercially available GLIFT kit. All of the samples gave the same results in which 76.67% of the samples were positive by 3 methods. Interestingly the signals showed higher virus accumulation in root than leaf samples among 50% of the positive samples. This study confirmed the efficiency these serological detection by using high quality and specific MAbs for the detection of this virus in orchids.