

ศิริहरยา มลิจารย์ 2551: การพัฒนาชุดตรวจสอบแบบรวดเร็วเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัส
ใบด่างแดงโดยใช้เทคนิคอิมมูโนโครมาโทกราฟี ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
(เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับ
บัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชณี องประยูร,
Ph.D. 83 หน้า

พัฒนาชุดตรวจสอบแบบรวดเร็วด้วยเทคนิคอิมมูโนโครมาโทกราฟี (อิมมูโนสตริป) เพื่อ
การตรวจสอบเชื้อไวรัสใบด่างแดง ใช้แอนติบอดี 3 ชนิด ได้แก่ โมโนโคลนอลแอนติบอดีและ
โพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสใบด่างแดง (MAb-CMV, PAb-CMV) และโพลีโคลนอล
แอนติบอดีต่ออิมมูโนโกลบูลินของหนูเมาส์ (RAM) นำ MAb-CMV มาพ่วงกับอนุภาคทองเพื่อ
เป็นตัวจับแอนติเจนที่บริเวณ conjugate release pad (CRP) ปฏิกริยาระหว่างแอนติเจนและ
แอนติบอดีจะเคลื่อนย้ายต่อไปยังแผ่นไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน (Prima 40) ซึ่งถูกเคลือบด้วย
PAb-CMV และ RAM ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในบริเวณ test line และ control line
ตามลำดับ ใช้ 33 glass fiber และ 470 cotton linter เป็นส่วนของ sample application pad (SAP)
และ wicking pad (WP) ตามที่ระบุโดยบริษัทผู้ผลิต อิมมูโนสตริปมีขนาด 0.5 x 6.0 ตาราง
เซนติเมตร การทดสอบประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบโดยทำปฏิกิริยากับน้ำคั้นใบยาสูบที่เดิม
เชื้อไวรัสใบด่างแดง เปรียบเทียบกับน้ำคั้นใบยาสูบปกติและบัฟเฟอร์ พบว่า ชุดตรวจสอบที่
พัฒนาขึ้นมีความไวที่ระดับ 0.048 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยไม่มีปฏิกิริยาข้ามกับน้ำคั้นพืชปกติ
และบัฟเฟอร์ การตรวจสอบใช้เวลา 6-15 นาที ซึ่งความเข้มสีของปฏิกิริยาเป็นสัดส่วนโดยตรงกับ
ความเข้มข้นของไวรัสในตัวอย่าง

การศึกษาการเตรียมอิมมูโนไลโปโซมเพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ทดแทนอนุภาคทองในชุด
ตรวจสอบ เตรียมได้จากเลซติน คอเลสเตอรอล และฟอสฟาติดีลเอทานอลามีนในอัตราส่วน
8:10:1 ได้อิมมูโนไลโปโซมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 256 นาโนเมตร โดยบรรจุสี
Sulforhodamine B (SRB) อยู่ภายใน และสามารถทำปฏิกิริยากับเชื้อไวรัสใบด่างแดงบริสุทธิ์
โปรตีนห่อหุ้มอนุภาคทองและอิมมูโนโกลบูลินต่อหนูเมาส์โดยการตรวจสอบด้วยวิธี
Dot immunobinding assay (DIBA)