ทำการเตรียมไวรัสตัวแดงดวงขาวให้บริสุทธิ์จากเลือดและเหงือกกุ้งกุลาดำติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว เมื่อนำไวรัสที่บริสุทธิ์ มาตรวจดูแถบโปรตีนของไวรัสโดยวิธี SDS-PAGE พบโปรตีนทั้งหมด 6 แถบได้แก่ โปรตีน ขนาด 24, 28, 40, 43, 120 และ 180 kDa โปรตีนที่ตรงกับงานวิจัยอื่นมี 2 แถบ ได้แก่โปรตีนขนาด 24 และ 28 kDa

ทำการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อไวรัสตัวแดงดวงขาว ใช้เทคนิคไฮบริโดมาโดยการเชื่อมเซลล์ม้ามหนู Balb/c ที่ผ่านการฉีดกระตุ้นด้วยไวรัสตัวแดงดวงขาวบริสุทธิ์ กับ myeloma cell (P3-X63-Ag.8.653) ผลการทดลองพบว่าได้เซลล์ไฮบริโดมา 1 โคลนที่สร้างโมโนโคลนอลแอนติบอดีจำเพาะกับไวรัสตัวแดงดวงขาว คือโคลน 5G5 เมื่อตรวจหาชนิดของโมโนโคลนอลแอนติบอดี (isotype) พบว่าเป็นชนิด IgG2a ซึ่งมี light chain เป็นชนิด kappa และเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Western blot พบว่าโมโนโคลนอลแอนติบอดี 5G5 มีความจำเพาะกับแถบโปรตีนของไวรัสตัวแดงดวงขาวขนาด 180 kDa และไม่พบ cross reaction กับไวรัสหัวเหลือง

ได้พัฒนาวิธีการตรวจเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีจากไฮบริโดมาโคลน 5G5 ด้วยวิธีทางอิมมูโนวิทยา (indirect ELISA, BA-DAS ELISA, dot ELISA และ BS dot ELISA) เพื่อตรวจหาไวรัสตัวแดงดวงขาวจากเลือดกุ้ง พบว่าวิธี BS dot ELISA ให้ผลในการตรวจพบไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ถูกต้อง 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการตรวจตัวอย่างกุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อไวรัส 40 ตัวอย่างและกุ้งปกติ 10 ตัวอย่าง ใช้เวลาในการตรวจประมาณ 4.20 ชั่วโมง มีความไวสูง (high sensitivity)ในการตรวจหาไวรัสตัวแดงดวงขาว ความเข้มข้นน้อยสุดของโปรตีนไวรัสที่สามารถตรวจพบคือ 0.390 μg/ml การอ่านผลการตรวจสามารถดูได้ด้วยตาเปล่า การตรวจหาไวรัสตัวแดงดวงขาวในเลือดกุ้งโดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี ด้วยวิธี BS-dot ELISA เป็นวิธีการตรวจที่ง่ายและสะดวก เหมาะนำไปใช้ตรวจหาไวรัสตัวแดงดวงขาวในฟาร์มกุ้งกุลาดำ

White spot syndrome virus (WSSV) was purified from gill and haemolymph of WSSV-infected shrimp (*Penaeus monodon*). Analysis of purified WSSV by SDS-PAGE showed 6 bands of virus protein molecular weight (M.W.) of 24 ,28, 40, 43, 120 and 180 kDa . Two of protein bands M.W. of 24 and 28 kDa were reported by other investigators.

Production of monoclonal antibodies specific to WSSV was performed by cell fusion between spleen cells of Balb/c mouse immunized with purified WSSV and myeloma cells (P3-X63-Ag8.653). One hybridoma clone named 5G5 which produced specific monoclonal antibody to WSSV was selected for mass production of monoclonal antibody *in vitro* and *in vivo*. Monoclonal antibody 5G5 was IgG2a with kappa light chain. Western blot analysis showed that monoclonal antibody 5G5 reacted with single WSSV protein which has M.W. 180 kDa and non reacted with yellow head virus (YHV).

Development of immunoassay (indirect ELISA, BS-DAS-ELISA, dot ELISA and BS dot ELISA) for detection of WSSV in *Penaeus monodon* by using monoclonal antibody 5G5 were performed. Detection of WSSV in 40 WSSV-infected shrimp samples and 10 normal shrimp samples by using BS dot ELISA showed 100% accuracy. The BS dot ELISA tests use 4.20 hours for assay and has sensitivity for detection of WSSV less than 0.390 μg/ml. This test for detection of WSSV in shrimp sample is easy to perform and convenient for using in the shrimp farm.