

วาริรัตน์ สมประทุม 2554: การพัฒนาเทคนิค Surface Plasmon Resonance (SPR) Biosensor สำหรับตรวจสอบเชื้อ *Chilli veinal mottle virus* (ChiVMV) ปรินญา
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์สุจินต์ ภัทรภูวดล, Ph.D. 111 หน้า

Chilli veinal mottle virus (ChiVMV) สาเหตุโรคเส้นใบด่างประของพริก ทำความเสียหายให้ผลผลิตพริกกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ การตรวจเชื้อไวรัสชนิดนี้นิยมใช้เทคนิค Plate trapped antigen enzyme-linked immunosorbent assay (PTA-ELISA) แต่เนื่องจากพบว่าวิธีนี้มีข้อจำกัดคือให้ปฏิกิริยาคงกับเชื้อไวรัสที่มีความใกล้เคียงกันคือเชื้อ *Pepper veinal mottle virus* (PVMV) จึงจำเป็นต้องพัฒนาวิธีการตรวจอื่นที่ให้ผลตรวจที่แม่นยำ งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาเทคนิค Surface plasmon resonance (SPR) biosensor เพื่อใช้ในการตรวจเชื้อไวรัสและเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจสอบเชื้อ ChiVMV ระหว่างเทคนิค SPR biosensor กับเทคนิค PTA-ELISA

ผลิตโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ ChiVMV KPS9 เพื่อนำมาใช้ในการทดลอง โดยนำโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ ChiVMV-KPS9 ตรึงบนแผ่นกระจกเคลือบด้วยอนุภาคทองคำที่ปรับสภาพพื้นผิวด้วยสาร 11-Mercaptoundecanoic acid (11MUA) สำหรับเป็นอิมมูโนเซ็นเซอร์ในการตรวจเชื้อนี้ด้วยเทคนิค SPR biosensor เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจสอบเชื้อ ChiVMV-KPS9 ระหว่างเทคนิค PTA-ELISA กับ SPR biosensor พบว่าเทคนิค SPR biosensor สามารถตรวจเชื้อไวรัสบริสุทธิ์ได้ที่ระดับต่ำสุด 3.9 ไมโครกรัม และตรวจเชื้อไวรัสในน้ำคั้นพืชได้ที่ค่าการเจือจาง 1:4,000 ในขณะที่เทคนิค PTA-ELISA ตรวจเชื้อไวรัสบริสุทธิ์ได้ที่ 1,000 ไมโครกรัม และเชื้อไวรัสในน้ำคั้นพืชที่ค่าการเจือจาง 1:4,000 ตามลำดับ การตรวจเชื้อของเทคนิค SPR biosensor ให้ความจำเพาะเจาะจงสูงกว่าเทคนิค PTA-ELISA โดยพิจารณาค่า Kinetic association constant (K_a) ของปฏิกิริยาการเข้าจับกันระหว่างเชื้อไวรัสกับแอนติบอดี ซึ่งพบว่าเทคนิค SPR biosensor และ PTA-ELISA มีค่า K_a เท่ากับ 10^4 - 10^5 $M^{-1}s^{-1}$ และ 10^2 - 10^4 $M^{-1}s^{-1}$ ตามลำดับ ถึงแม้ว่าเทคนิค SPR biosensor จะให้ผลการตรวจเชื้อไวรัสได้ในขณะเกิดปฏิกิริยาและสามารถนำแผ่น SPR immunosensor กลับมาใช้ตรวจเชื้อ ChiVMV-KPS9 ได้ซ้ำอย่างน้อย 4 ครั้ง แต่เทคนิค SPR biosensor มีค่าใช้จ่ายในการตรวจเชื้อไวรัสประมาณ 95 บาทต่อตัวอย่าง ซึ่งสูงกว่าเทคนิค PTA-ELISA ประมาณ 2 เท่า