บทคัดย่อ

เพื่อให้ได้หัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพที่มีคุณภาพและปลอดการปนเปื้อน การระบุเชื้อและการติดตามเชื้อจึงมีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อให้แน่ใจว่าเกษตรกรจะได้รับประโยชน์จากการใช้ปุ๋ยชีวภาพได้เต็มประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาเทคนิคในการระบุเชื้อและการติดตามเชื้อขึ้นมาหลากหลายวิธีโดยเฉพาะการใช้แอนติบอดี้ แต่อย่างไรก็ตามขั้นตอนในการผลิตยังมีความยุ่งยาก ราคาแพง และให้ประสิทธิภาพต่ำ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้นำเทคโนโลยีการผลิตโมโนโคนอลแอนติบอดี้บนผิวเฟจ มาใช้ในการระบุเชื้อแบรดดี้ไรโซเบียม สายพันธุ์ DOA9 โดยผลการทดลองพบว่าโมโนโคนอลแอนติบอดีที่ได้จาก คลังยาโม ๑ ซึ่งเป็นคลังแอนติบอดีมนุษย์ โคลนที่ RD6/2 มีความจำเพาะเจาะจงกับ DOA9 สูงที่สุด แต่อย่างไรก็ตามยังพบการทำปฏิกิริยาจับกับเชื้อแบรดดี้ไรโซเบียม SUT1-12 ซึ่งเป็นเชื้อที่มีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมกับเชื้อ DOA9 สูง แต่ไม่พบการทำปฏิกิริยาจับกับเชื้อแบรดดี้ไรโซเบียม รวมทั้งเชื้อจุลินทรีย์ดินอื่น ๆ ที่นำมาทดสอบด้วยเทคนิค ELISA ในขณะที่โพลีโคลนอลแอนติบอดี้ที่ผลิตได้จากกระต่ายที่ถูกกระตุ้นโดยการฉีดเชื้อ DOA9 พบว่าทำปฏิกิริยาจับกับเชื้อแบรดดี้ไรโซเบียมอื่น ๆ ได้ จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพการตรวจสอบและติดตามเชื้อแบรดดี้ไรโซเบียม สายพันธุ์ DOA9 ในรูปแบบของหัวเชื้อชนิดเหลว และในปมรากถั่วโดยใช้เทคนิค Immunofluorescence พบว่าแอนติบอดีที่ได้จากเฟจโคลน RD6/2 มีความจำเพาะเจาะจงกับ DOA9 สามารถเข้าทำปฏิกิริยาจับกับแอนติเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพทั้งในรูปแบบหัวเชื้อชนิดเหลว และในปมรากถั่ว ดังนั้นจึงสามารถนำแอนติบอดีที่ผลิตได้บนผิวเฟจนี้มาประยุกต์ใช้ระบุเชื้อได้อย่างแม่นยำทั้งในระบบการผลิตหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพ และการติดตามเชื้อในแปลงเกษตรกรต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Abstract

The identification and monitoring of selected organisms in biofertilizers are very important to predict their effectiveness of biofertilizers and ensure the highest usefulness received by the farmers. Techniques based on antibody-antigen reactions have been developed in the analysis of rhizobial inoculants. However, these techniques are complicate, expensive and many times have cross reactivity with other rhizobia or soil bacteria. Thus, the purpose of this study was to develop the monoclonal antibody for *Bradyrhizobium* sp. DOA9 by using the phage display technology, which allow to isolate antibodies directly from diverse repertoires of antibody genes. The result showed that human monoclonal antibodies against *Bradyrhizobium* sp. DOA9 were selected from non-immunized human scFv library (YAMO-I library) by using phage display technology. After screening by biopanning method, the phage clone RD6/2 showed high specificity with DOA9 strain by using phage ELISA technique. However, phage clone RD6/2 still have low level of interaction with *Bradyrhizobium* sp. SUT1-12, which is similar to DOA9 strain based on phylogenetic tree. On the other hand, polyclonal antibody produce from immunized rabbit with DOA9 strain showed high cross reactivity with other bradyrhizobia. The efficiency of phage clone RD6/2 in identification and monitoring of DOA9 was confirmed by immunofluorescence technique. The result showed that both types of antigen from pure culture and nodule could be detected by using phage clone RD6/2. Thus, this isolated recombinant antibody could be applied for detection and monitoring bacteria during inoculant production process as well as in the field condition.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี