บทคัดย่อภาษาไทย

เป้าหมายที่ใช้เป็นแบบจำลองในการดำเนินการวิจัยนี้ คือ แบคทีเรียที่มีคุณประโยชน์ต่อพืช ได้แก่ แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในกลุ่ม Bradyrhizobium โดยได้ทำการพัฒนาวิธีการคัดหาเฟจจากคลังแอนติบอดีมนุษย์ย่าโม 1 พบว่าสามารถผลิตแอนติบอดีที่จับกับ Bradyrhizobium ได้อย่างจำเพาะเจาะจง 2 ชนิดคือ แอนติบอดีจับจำเพาะ DOA9 และ SUT9-2 ส่วนในด้านการสร้างคลังนั้น ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการสร้างคลังทุติยภูมิ โดยใช้กระต่ายเป็นแหล่งในการผลิตแอนติบอดี โดยเริ่มตั้งแต่การกระตุ้นให้กระต่ายผลิตแอนติบอดี จากนั้น สกัดเอา mRNA จากม้ามมาเป็นแหล่งของยีนสำหรับสร้างแอนติบอดีบนผิวเฟจ ซึ่งวิธีการสร้างคลังแอนติบอดีกระต่ายบนผิวเฟจนั้น ใช้ในแนวทางเดียวกับการสร้างคลังแอนติบอดีมนุษย์ แต่ต้องมีการปรับวิธีการให้เหมาะสมสำหรับแอนติบอดีกระต่าย ผลการศึกษาคุณสมบัติคลัง พบว่าเป็นแหล่งที่ดีในการผลิตแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ Bradyrhizobium เช่นเดียวกัน จากนั้นได้ทำการยืนยันความสามารถของแอนติบอดีปรับแต่งพันธุกรรมทั้งหมดที่ได้พัฒนาขึ้นในการจับกับเป้าหมายอย่างจำเพาะเจาะจง ซึ่งได้ทำใน 2 รูปแบบ คือ ทั้งการแสดงผลทั้งบนจานปฏิกิริยาและจากรูปถ่ายเรืองแสง ซึ่งเป็นที่น่ายินดีว่าแอนติบอดีที่คัดหามาได้นั้นสามารถจับได้อย่างเจาะจงกับทั้งแบคทีเรียในรูปอิสระ และแบคทีเรียที่กลายรูปไปแล้วเมื่อไปอาศัยอยู่ในปมรากถั่ว ผลงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า วิธีการคัดหาเฟจจากคลังและการสร้างคลังแอนติบอดีจากกระต่ายที่ได้ค้นคว้าวิจัยขึ้นมานี้มีประสิทธิภาพดี สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานวิจัยทางการเกษตรอื่นๆ ได้ต่อไปในอนาคต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

The objectives of this research were to develop an efficient method for the bio-panning of phage display antibody library and the construction of immunized phage display antibody library for agricultural applications. The targets that were used as models in this study are nitrogen-fixing bacteria in the group of Bradyrhizobium, which are beneficial for plants. The efficient bio-panning method for the selection of specific recombinant antibody against strain DOA9 and SUT9-2 from human scFv phage display library (Yamo1) was successfully developed. As for the construction of immunized phage display antibody library, rabbit was immunized with strain DOA9, and then the mRNA was extracted from spleen and used as template for synthesis of scFv antibody on the phage coat protiens. The method that was used for the construction of the library was based on our previous method that has been used successfully in our laboratory to build human antibody library; however several modification had been made to allow the construction of the rabbit library. The result from biopanning of immunized rabbit library indicated that the library was a good source for the production of specific antibody against Bradyrhizobium as well. To confirm specific binding of all recombinant antibodies that had been generated, two independent methods were performed. The first method was based on Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and the second method was based on Immunofluoresecent (IF) analysis. Fortunately, our results indicated that these selected antibodies could bind not only to free form of the bacteria in pure culture but also to bacteroid inside the plant nodule. In conclusion, these results indicated that the bio-panning strategy and the method for the construction of phage display antibody from immunized rabbit that have been developed in this research project are efficient and can be further applied for other agricultural applications in the future.