การศึกษาความจำเพาะของแอนติบอดีต่อโปรตีน LipL32 บนตัวเชื้อเลปโตสไปราสายพันธุ์ก่อโรคโดยเทคนิค indirect immunofluorescence assay

Study of specificity of antibody against LipL32 protein on pathogenic *Leptospira* spp. by indirect immunofluorescence assay

นางสาวกฤติยาภรณ์ วิลยะกูล

นางสาวจิตต์กาญจน์ สังข์งิ้วงาม

นางสาวจิรประภา โนศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)

คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ปีการศึกษา 2565

มหาวิทยาลัยนเรศวร

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาความจำเพาะของแอนติบอดีต่อโปรตีน LipL32 บนตัวเชื้อเลปโตสไปรา สายพันธุ์ก่อโรคโดยเทคนิค indirect immunofluorescence assay
ชื่อนิสิต	นางสาวกฤติยาภรณ์ วิลยะกูล นางสาวจิตต์กาญจน์ สังข์งิ้วงาม นางสาวจิรประภา โนศรี
สาขาวิชา	เทคนิคการแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.นภาพร อภิรัฐเมธีกุล

คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรีนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)

นภาพร อภิรัฐเมธีกุล
(ดร.นภาพร อภิรัฐเมธีกุล)
อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ครรชิต คงรส)
หัวหน้าภาควิชาเทคนิคการแพทย์

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศุภวิทู สุขเพ็ง)
คณบดีคณะสหเวชศาสตร์

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาความจำเพาะของแอนติบอดีต่อโปรตีน LipL32 บนตัวเชื้อเลปโตสไปรา สายพันธุ์ก่อโรคโดยเทคนิค indirect immunofluorescence assay
ชื่อนิสิต	นางสาวกฤติยาภรณ์ วิลยะกูล นางสาวจิตต์กาญจน์ สังข์งิ้วงาม นางสาวจิรประภา โนศรี
สาขาวิชา	เทคนิคการแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.นภาพร อภิรัฐเมธีกุล

คณะกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี ขอรับรองว่านิสิตผ่านการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ โดยได้มีการปรับปรุงแก้ไขรายงานตามข้อเสนอแนะจากคณะกรรมการแล้ว

นภาพร อภิรัฐเมธีกุล

(ดร.นภาพร อภิรัฐเมธีกุล)

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา อู่สุวรรณทิม)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เริงวิทย์ บุญโยม)

กรรมการ

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรีนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยได้รับความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก อ.ดร.นภาพร อภิรัฐเมธีกุล อาจารย์ที่ปรึกษาของวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา คำชี้แนะ อีกทั้งยังให้ความช่วยเหลือและแก้ไขปัญหาข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทำงานวิจัย และการสืบค้นข้อมูลจนวิทยานิพนธ์นี้เสร็จสิ้น

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เริงวิทย์ บุญโยม และ รองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา อู่สุวรรณทิม ที่สละเวลามาเป็นคณะกรรมการในการประเมินผลวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี อีกทั้งยังให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการจัดทำวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรีครั้งนี้

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เริงวิทย์ บุญโยม ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อ *Leptospira* spp. ที่นำมาใช้ในการทดสอบ ทั้งสายพันธุ์ที่ก่อโรค และสายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรค ในการทำวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรีครั้งนี้

ขอขอบคุณ จิราภรณ์ จินะ และชัชชฎานภา ศิริสุนทร ที่ให้ความอนุเคราะห์หนูทดลองที่ถูกกระตุ้นด้วยโปรตีนลูกผสม GST-LipL32 ที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรีครั้งนี้

ขอขอบคุณ สโรชา อินทรนิวาส สุภาภรณ์ อ่อนศรี และ อรอนงค์ ภัคพีรกานต์ ที่ให้ความอนุเคราะห์โปรตีน LipL32 และโปรตีนลูกผสม GST-LipL32

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หนึ่งฤทัย นิลศรี ณัฐพล สมรรคจันทร์ ผกากาญจน์ ฐิติวุฒิจิรโชติ พิยดา ประทุมศิริ และ วราภรณ์ ปาคำ ที่ให้แนวทางต่าง ๆ สำหรับคณะผู้ทำวิจัยตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรีครั้งนี้

ขอขอบคุณ วธัญญู บัวแก้ว ที่ให้คำปรึกษา และสอนทักษะในการใช้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์ในการทำวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรีครั้งนี้

ขอขอบคุณ ปนัดดา เจิมศรี และ อรรถนพ เทียมแก้ว นักวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา และให้คำแนะนำผู้ทำวิจัยตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรีครั้งนี้

คณะผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

นางสาวกฤติยาภรณ์ วิลยะกูล
นางสาวจิตต์กาญจน์ สังข์งิ้วงาม
นางสาวจิรประภา โนศรี

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาความจำเพาะของแอนติบอดีต่อโปรตีน LipL32 บนตัวเชื้อเลปโตสไปรา สายพันธุ์ก่อโรคโดยเทคนิค indirect immunofluorescence assay

ชื่อนิสิต นางสาวกฤติยาภรณ์ วิลยะกูล
นางสาวจิตต์กาญจน์ สังข์งิ้วงาม
นางสาวจิรประภา โนศรี

สาขาวิชา เทคนิคการแพทย์

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.นภาพร อภิรัฐเมธีกุล

บทคัดย่อ

โรคเลปโตสไปโรสิสหรือโรคฉี่หนู เป็นโรคติดต่อจากสัตว์สู่คนที่สำคัญที่สุดทั่วโลก เกิดจากเชื้อแบคทีเรียรูปเกลียวที่มีชื่อว่า *Leptospira* spp. สายพันธุ์ก่อโรค โดยมีโปรตีน LipL32 เป็นส่วนประกอบหนึ่งของเยื่อหุ้มชั้นนอกที่พบเฉพาะในเชื้อกลุ่มที่ก่อโรค ในการศึกษาก่อนหน้านี้ได้มีการผลิตแอนติบอดีต่อโปรตีน LipL32 จากการกระตุ้นหนูทดลองด้วยโปรตีนลูกผสม GST-LipL32 ซึ่งในงานวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยต้องการศึกษาความจำเพาะของแอนติบอดีชนิดโพลีโคลนอลจากหนูทดลองที่ฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยโปรตีนลูกผสม GST-LipL32 ต่อโปรตีน LipL32 บนตัวเชื้อเลปโตสไปราสายพันธุ์ก่อโรคโดยเทคนิค indirect immunofluorescence assay (IFA) โดยทำการพิสูจน์ความจำเพาะของแอนติบอดีในซีรัมของหนูทดลองที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยโปรตีนลูกผสม GST-LipL32 และ LipL32 ด้วยวิธี indirect ELISA พบว่าในซีรัมของหนูทดลองมีแอนติบอดีที่สามารถจับกับโปรตีนลูกผสม GST-LipL32 และ LipL32 ได้ จากนั้นทำการหาความจำเพาะของแอนติบอดีในซีรัมของหนูทดลองบนตัวเชื้อเลปโตสไปราสายพันธุ์ก่อโรคโดยวิธี IFA โดยใช้สไลด์แก้วที่เคลือบเลปโตสไปราสายพันธุ์ก่อโรค พบว่าเห็นการเรืองแสง FITC เป็นลักษณะแท่งเกลียว แสดงว่าแอนติบอดีในซีรัมของหนูทดลองที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้ง 2 ตัว สามารถจับกับโปรตีน LipL32 บนตัวเชื้อเลปโตสไปราสายพันธุ์ก่อโรคได้

คำสำคัญ ระบบภูมิคุ้มกัน, โรคฉี่หนู, โพลีโคลนอลแอนติบอดี, LipL32

Project Title Study of specificity of antibody against LipL32 protein on pathogenic *Leptospira* spp. by indirect immunofluorescence assay

By Krittiyaporn Wilyakoon
Jittakarn Sungngewngarm
Jiraprapa Nosri

Program Title Medical technilogy

Advisor Napaporn Apiratmeteekul, Ph.D

Abstract

Leptospirosis is a disease caused by pathogenic strains of the *Leptospira* spp. that is transmitted from animals to humans. LipL32 protein occurs only on the outer cell membrane of the pathogenic of *Leptospira* spp. Polyclonal antibodies against LipL32 were produced in a previous study by immunizing rats with recombinant GST-LipL32. The objective of this study was to use an indirect immunofluorescence assay (IFA) to determine the specificity of the antibody against the LipL32 protein on *Leptospira* spp. The indirect enzyme-linked immunosorbent assay confirmed the specificity of the antibody against LipL32 and recombinant GST-LipL32 protein in immunized rat serum. The result showed that the immunized rat serum contains antibodies against recombinant GST-LipL32 and LipL32 proteins. The specificity of rat serum antibodies on pathogenic *Leptospira* spp. was determined by IFA method using glass slides coated with pathogenic *Leptospira* spp. The result showed that the polyclonal antibodies in the serum of both immunized rats could bind specifically to LipL32 protein on the pathogenic *Leptospira* spp.

Keywords Immune system, Leptospirosis, Polyclonal antibody, LipL32