

นักศึกษา	นายจิรพัฒน์ วัตตะกุมาร
รหัสนักศึกษา	6300859
นักศึกษา	นางสาวกัญญาณัฐ มั่นคง
รหัสนักศึกษา	6303013
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์ชีวการแพทย์
ปีการศึกษา	2566
อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย	ดร.ศุภฤทธิ ภักดีไทย
อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยร่วม	ดร.เกศบุญวิศ บุญรอดศิษฐ์
เรื่อง	การใช้วิธี SELEX เพื่อพัฒนาการตรวจหาสาร ที่ก่อให้เกิดการแพ้ในอาหารชนิดกลูเตน
คำสำคัญ	กลูเตน SELEX Aptamer

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการตรวจหาสารกลูเตนกลุ่มของโปรตีนใน ข้าวสาลีซึ่งมีกลูเตนที่ให้ความยืดหยุ่น ซึ่งช่วยให้เกิดผลิตภัณฑ์ได้หลากหลาย เช่น ขนมปัง เค้กและขนมอบ โปรตีนสะสมมีส่วนประกอบประมาณ 8-15 % ของน้ำหนักแป้งทั้งหมดและสามารถจำแนกได้เป็น albumins, globulins, gliadins และ glutenins แม้ว่ากลูเตนจะอุดมไปด้วยโปรตีน แต่กลูเตนที่อยู่ในข้าวสาลีเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความผิดปกติและภูมิแพ้ในบางคนได้ งานวิจัยนี้จึงทำการตรวจหาสารกลูเตนที่ปนเปื้อนในอาหารด้วยวิธีแอปทามาเมอร์ผ่านกระบวนการ Systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX) เป็นวิธีที่ถูกนำมาใช้ในการศึกษาสำหรับการคัดเลือก Aptamer ที่มีความจำเพาะต่อโปรตีนกลูเตน โดยทำซ้ำตามขั้นตอน Binding, Partition, Elution และ Amplification โดยในขั้นตอน Binding จะใช้วิธีการ binding gluten กับ silica gel และทำการแยก (Partition) ด้วยวิธีการตกตะกอน และเพิ่มปริมาณ Amplification ด้วยปฏิกิริยา PCR ซึ่งในปฏิกิริยาประกอบด้วย 1x บัฟเฟอร์ที่มีส่วนผสมของ $MgCl_2$, 1.2 μM primer, 0.5 mM dNTPs, 0.05 unit/ μL Taq DNA polymerase และเทมเพลตดีเอ็นเอ 1 μL โดยปฏิกิริยาของ PCR เป็นดังนี้ Denature ที่อุณหภูมิ 94°C เป็นเวลา 10 วินาที, Annealing ที่อุณหภูมิ 66°C เป็นเวลา 10 วินาที และ Extension ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 10 วินาที โดยขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้รับถูกตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยใช้ 4% agarose gel ซึ่งขั้นตอน SELEX พบว่าถูกทำซ้ำทั้งหมด 7 รอบ และได้ aptamer ที่มีความจำเพาะต่อกลูเตน โดย Aptamer มีความเสถียรที่มากกว่าแอนติบอดี มีภูมิคุ้มกันต่ำและมีความสามารถในการกำหนดเป้าหมายโมเลกุลที่มีแอนติเจนต่ำในด้านการพัฒนา Aptamer ซึ่งรวดเร็วและง่าย โดยไม่จำเป็นต้องใช้สัตว์ในการทดลอง อีกทั้งยังใช้ต้นทุนการผลิตที่ต่ำและมีความเสถียรในการทำงานเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งทำให้มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน ซึ่งสามารถนำ aptamer ที่จำเพาะต่อกลูเตนไปพัฒนาเป็นชุดทดสอบได้ต่อไป