บทที่ 1
บทนำ

ฮอร์โมนพืช (plant hormone) เป็นปัจจัยภายในที่มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับการควบคุมกลไกและการตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืช ซึ่งในแต่ละกระบวนการนั้น มีความต้องการชนิดและปริมาณของฮอร์โมนที่แตกต่างกัน (Srivastava, 2001) ดังนั้น การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนแต่ละชนิดในแต่ละกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช จึงเป็นปัจจัยสำคัญ ในการวางรากฐานขององค์ความรู้พื้นฐาน ซึ่งจะนำไปสู่ความรู้ความเข้าใจและแนวทางในการศึกษากลไกทางสรีรวิทยาต่าง ๆ ของพืช เช่น การออกดอกของพืช โดยไซโตไคนิน เป็นฮอร์โมนพืชกลุ่มหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับการออกดอกของพืช โดยเฉพาะ ซีเอตินไรโบไซด์ (Zeatin Riboside, ZR) ที่สามารถพบได้ในปริมาณสูงของช่วงก่อนการออกดอก เช่นการศึกษาของ Stern *et al.* (2003) ที่พบปริมาณฮอร์โมนไซโตไคนินโดยเฉพาะ ZR มีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วงก่อนการออกดอกของต้นลิ้นจี่ สอดคล้องกับงานวิจัยของ พัชรินทร์ (2551) ที่พบปริมาณ ZR เพิ่มขึ้นในต้นลำไยหลังราดสารโพแทสเซียมคลอเรต ในระยะใบอ่อนก่อนการออกดอก 24 วัน และในต้นลำไยที่ตัดใบอ่อนทิ้ง ก่อนการออกดอก 10 วัน

อย่างไรก็ตามในการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนพืชให้ได้ผลที่แม่นยำเป็นขบวนการที่ยากและซับซ้อน เนื่องจากปริมาณฮอร์โมนในเนื้อเยื่อพืชมีน้อยมาก รวมถึงขั้นตอนการสกัดมีสารรบกวนรวมอยู่เป็นจำนวนมาก (Crozier, 1999) ดังนั้น จำเป็นต้องใช้เทคนิคที่มีคุณสมบัติจำเพาะในการวัดปริมาณฮอร์โมนดังกล่าว เทคนิคเอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนท์แอซเซ (Enzyme –Linked Immunosorbent Assay, ELISA) เป็นเทคนิคที่ใช้ปฏิกิริยาการจับกันของแอนติเจนและแอนติบอดี โดยใช้เอนไซม์เป็นตัวติดตามปฏิกิริยา ซึ่งจะเป็นลักษณะที่จำเพาะเจาะจงและไม่ทำปฏิกิริยากับสารชนิดอื่น เป็นวิธีที่มีความไว (sensitivity) และมีความแม่นยำสูง สามารถวัดปริมาณสารที่ต้องการศึกษาได้ในระดับที่ต่ำ (ระดับนาโนกรัม) นอกจากนี้ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมนไม่จำเป็นต้องมีความบริสุทธิ์มากเหมือนการวิเคราะห์ด้วยวิธีอื่น ทำให้เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และรวดเร็ว สามารถวิเคราะห์ได้ครั้งละจำนวนมากและไม่ต้องอาศัยเครื่องมือราคาแพง (Beale, 1999) ซึ่งแอนติบอดีที่ใช้ในเทคนิค ELISA มี 2 ประเภท คือ โมโนโคลนอลแอนติบอดี (Monoclonal antibody, MAb) และโพลีโคลนอลแอนติบอดี (Polyclonal antibody, PAb) อย่างไรก็ตาม โมโนโคลนอลแอนติบอดี เป็นแอนติบอดีที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงจึงนิยมใช้ในการตรวจวัดฮอร์โมน เพราะมีคุณสมบัติของเซลล์ลูกผสม (Hybridoma cells) จากเซลล์สองชนิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คือ เซลล์ไมอิโลมา (Myeloma) ที่สามารถแบ่งตัวได้เป็นจำนวนมาก ผลิตในหลอดทดลองได้อย่างต่อเนื่อง และเซลล์ม้ามของสัตว์ที่สามารถผลิตแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนได้

อย่างไรก็ตาม ในการศึกษานี้มุ่งเน้นการผลิตแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อ ZR ดังนั้นจึงได้มีการผลิต และศึกษาโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อ ZR จากเซลล์ลูกผสม ระหว่างเซลล์ไมอิโลมาจากหนูตัวเล็ก (mouse) สายพันธุ์ X63-Ag 8.653 กับเซลล์ม้ามของหนูที่ถูกกระตุ้นให้สร้างภูมิคุ้มกันต่อฮอร์โมน ZR เพื่อนำแอนติบอดีที่ได้มาใช้ในเทคนิค ELISA เพื่อใช้ตรวจวัดปริมาณ ZR ในพืช

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีของฮอร์โมนพืช ชนิด ZR
2. เพื่อนำโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้มาใช้ในการวัดปริมาณฮอร์โมน ZR ในพืช

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการศึกษา

1. สามารถผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีของฮอร์โมนพืช ชนิด ZR
2. สามารถนำโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้มาใช้ในการวัดปริมาณฮอร์โมน ZR ในพืช

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved