

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันสัตว์น้ำกลายเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้ให้กับประเทศไทยอย่างมากมายมหาศาล ทั้งนี้ก็เนื่องจากสัตว์น้ำมีโปรตีนสูง ไขมันต่ำ และมีกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกายจึงทำให้เป็นที่ชื่นชอบของบุคคลโดยทั่วไปมูลค่าการส่งออกจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับจำนวนสัตว์น้ำที่สามารถทำการประมงได้ในแต่ละปี ซึ่งจำนวนสัตว์น้ำที่ได้มาจากการทำการประมงเพียงอย่างเดียวนั้นไม่สามารถตอบสนองความต้องการของประชากรในประเทศที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในปัจจุบันได้ ดังนั้นรัฐบาลจึงมีการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพิ่มมากขึ้นเพื่อทดแทนสัตว์น้ำในธรรมชาติ

ปลากะรังจุดฟ้า (*Plectropomus maculatus*) เป็นหนึ่งในปลากะรังที่มีการซื้อขายกันในราคาสูง และเป็นชนิดที่ได้รับความนิยมมากในปัจจุบัน โดยปลากะรังขนาด 0.8-1.2 กิโลกรัมราคาซื้อขายคือตัวละประมาณ 750-850 บาท ซึ่งสูงกว่าปลากะรังดอกแดงหรือดอกดำที่มีราคาตัวละ 250-360 บาท ในขณะที่ปลาเก๋าเสียราคาตัวละ 400-600 บาท (อาคม สิงหนุญ ไพบุญ บุญลิขิตานนท์ และสามารถ เดชสถิตย์, 2546)

ปลาทะเลและปลากะรังจุดฟ้า จะมีลักษณะที่แตกต่างจากปลาน้ำจืดคือลักษณะภายนอกของปลาเพศผู้และปลาเพศเมียจะไม่แตกต่างกัน จึงต้องอาศัยผู้มีประสบการณ์อย่างมากในการที่จะแยกเพศและตรวจสอบความสมบูรณ์เพศของพ่อแม่พันธุ์ปลาก่อนที่จะนำมากระตุ้นด้วยฮอร์โมนเพื่อให้ปลาวางไข่ จากลักษณะที่พบดังกล่าวจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงเทคนิคต่าง ๆ ที่จะนำมาใช้ในการแยกเพศและตรวจสอบความสมบูรณ์เพศของปลากะรังจุดฟ้าซึ่งการตรวจสอบปริมาณไวเทลโลเจนิน (Vitellogenin) ในพลาสมาก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้เพราะไวเทลโลเจนินเป็นโปรตีนหลักในโวล์ซึ่งตัวอ่อน (Embryo) จะใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานสำหรับการเจริญเติบโต ในขณะที่ไข่มีการพัฒนาจะมีการสะสมไวเทลโลเจนินเพิ่มขึ้นตามพัฒนาการของไข่ ดังนั้นจึงสังเกตได้ว่าเมื่อปลาใกล้จะวางไข่แม่ปลาจึงมีท้องที่อูมเป่งมากกว่าปกติ ส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาไม่มีกระบวนการสร้างไข่ท้องจึงแบนราบ ซึ่งแนวโน้มของปริมาณไวเทลโลเจนินที่พบก็ควรจะต่ำกว่าปลาเพศเมีย แต่กระบวนการสังเคราะห์ไวเทลโลเจนินก็สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นได้เมื่อมีการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนเอสตราไดออกหรือสารที่มีลักษณะคล้ายกับฮอร์โมนเอสตราไดออก (Hennies, Wiesmann, Allner, & Sauerwein, 2003)

การตรวจสอบปริมาณไวเทลโลเจนินสามารถทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายคือ วิธีทางภูมิคุ้มกัน เช่น ELISA, RIA และ Rocket Immunoelectrophoresis เป็นต้น พื้นฐานการตรวจสอบโดยใช้วิธีทางภูมิคุ้มกันจะเกี่ยวข้องกับการทำปฏิกิริยากันระหว่างแอนติเจน

(Antigen) และแอนติบอดี (Antibody) โดยแอนติบอดีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาจะแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ โมโนโคลนอลแอนติบอดี (Monoclonal Antibody) และโพลีโคลนอลแอนติบอดี (Polyclonal Antibody) โพลีโคลนอลแอนติบอดีเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในห้วงปฏิบัติการทั่วไป เนื่องจากใช้ต้นทุนในการผลิตต่ำ กระบวนการผลิตใช้เวลาน้อยคือประมาณ 6 สัปดาห์ (Burn, 2002) และเกิดปฏิกิริยาตกตะกอนได้ง่ายเพราะประกอบด้วยประชากรของแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ Epitope ต่าง ๆ ของแอนติเจนตรงข้ามกับโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่มีตำแหน่งที่จับอย่างจำเพาะเพียง Epitope เดียว (ไพศาล สิทธิกรกุล, 2548)

ในงานวิจัยครั้งนี้จะเป็นการศึกษาถึงวิธีการแยกไวเทลโลเจนินจากพลาสมาและผลิตโพลีโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวเทลโลเจนินของปลากะรังจุดฟ้าที่เลี้ยงไว้ในกระชังบริเวณหน้าเกาะเสม็ดที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจังหวัดระยอง ซึ่งการผลิตโพลีโคลนอลแอนติบอดีจะเริ่มจากการนำเอาโปรตีน (ไวเทลโลเจนิน) ที่แยกได้โดยเทคนิคโครมาโตกราฟี (Chromatography) ไปฉีดกระตุ้นให้หนูขาวสร้างแอนติบอดี และทำการเก็บเลือดมาปั่นแยกซีรัมมาใช้ทดสอบความจำเพาะของแอนติบอดีต่อไวเทลโลเจนินโดยใช้เทคนิค Immunodiffusion, Dot Blot และ Western Blot ข้อมูลของไวเทลโลเจนินที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการผลิตแอนติบอดีและการตรวจสอบความจำเพาะของแอนติบอดี รวมไปถึงการนำแอนติบอดีไปใช้ประโยชน์ทางระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ชนิดอื่น ๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อแยกไวเทล โลเจนินของปลากะรังจุดฟ้าและ ศึกษาลักษณะสมบัติของไวเทล โลเจนินที่ได้จากปลากะรังจุดฟ้า
2. ผลิตและศึกษาความจำเพาะของโพลี โคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อไวเทล โลเจนินของปลากะรังจุดฟ้า

สมมติฐานของการวิจัย

1. ไวเทล โลเจนินบริสุทธิ์สามารถแยกได้จากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้า
2. โพลีโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้มีความจำเพาะต่อไวเทล โลเจนินของปลากะรังจุดฟ้า

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1. นำไวเทล โลเจนินที่แยกได้มาใช้เป็นสารมาตรฐานในการคัดค้านชุดตรวจสอบเพศปลาได้ต่อไป

2. นำโพลีโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้ไปใช้ในการพัฒนาเทคนิคทางภูมิคุ้มกันเพื่อใช้วัดปริมาณไวเทลโลเจนนินในปลากะรังจุดฟ้า
3. เป็นแนวทางพัฒนาใช้ในการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวเทลโลเจนนินของปลากะรังจุดฟ้า
4. เป็นแนวทางสำหรับพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ ในอนาคต

ขอบเขตของการวิจัย

1. ทำการแยกไวเทลโลเจนนินของปลากะรังจุดฟ้าโดยใช้เทคนิค Ion-Exchange Chromatography และ Gel-Filtration Chromatography
2. ผลิตโพลีโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อไวเทลโลเจนนินของปลากะรังจุดฟ้า
3. ตรวจสอบคุณภาพและความจำเพาะของโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อไวเทลโลเจนนินของปลากะรังจุดฟ้าโดยใช้เทคนิค Immunodiffusion, Dot Blot และ Western Blot