DEVELOPMENT OF ION SENSITIVE FIELD EFFECT TRANSISTOR DEVICE FOR REAL TIME GROWTH DETECTION OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

PAWASUTH SAENGDEE

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
(MEDICAL TECHNOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2017

Copyright by Mahidol University

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

DEVELOPMENT OF ION SENSITIVE FIELD EFFECT TRANSISTOR DEVICE FOR REAL TIME GROWTH DETECTION OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

PAWASUTH SAENGDEE 5436485 MTMT/D

Ph.D.(MEDICAL TECHNOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: CHAMRAS PROMPTMAS, Ph.D., WATCHARA KASINRERK, Ph.D. WUTTHINAN JEAMSAKSIRI, Ph.D.

ABSTRACT

The development of rapid and highly reliable sensor is essential for preventing the transmission of *M. tuberculosis* which is a major health issue in developing countries. In this study, the ion sensitive field effect transistor (ISFET) was developed for the detection of Ag85B protein. This protein is highly secreted during *M. tuberculosis* growth in liquid media. As the efficiency of ISFET depends on the type of sensing membrane and immobilization method, both of these factors were studied to achieve the optimal condition for ISFET fabrication. Ag85B ImmunoFET was developed by immobilizing monoclonal antibody against Ag85B protein (anti-Ag85 mAb clone AM85B-5 and AM85B-8) onto sensing membrane. The linearity of AM85B-5 modified ImmunoFET is 0.12 -1 μg/ml and 0.18-1 μg/ml for AM85B-8 modified ImmunoFET. Then, AM85B-5 modified Ag85B ImmunoFET was employed for the detection of native Ag85B protein in culture filtrate. The result showed AM85B-5 modified Ag85B ImmunoFET was highly specific to native Ag85B protein of *M. tuberculosis* than other mycobacteria species. Therefore, AM85B-5 modified Ag85B ImmunoFET could be embedded into culture system for real-time growth monitoring *M. tuberculosis*, however, its performance should be improved before applying into the culture system to obtain a more effective *M. tuberculosis* sensor.

KEY WORDS: TUBERCULOSIS / *M. tuberculosis* / ION SENSITIVE FIELD EFFECT TRANSISTOR

Copyright by Mahidol University

193 pages

การพัฒนาทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าที่ไวต่อไอออนเพื่อการตรวจหาการเจริญเติบโตของเชื้อวัณโรค
DEVELOPMENT OF ION SENSITIVE FIELD EFFECT TRANSISTOR DEVICE FOR REAL TIME GROWTH DETECTION OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

ภาวศุทธิ แสงดี 5436485 MTMT/D

ปร.ด. (เทคนิคการแพทย์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: จำรัส พร้อมมาศ, Ph.D., วัชระ กสิณฤกษ์, Ph.D., วุฒินันท์ เจียมศักดิ์ศิริ, Ph.D.

บทคัดย่อ

การพัฒนาเครื่องมือสำหรับการวินิจฉัยการวัณโรค ที่สามารถตรวจหาเชื้อวัณโรคได้รวดเร็วและถูกต้องแม่นยำเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อป้องการแพร่กระจายของเชื้อวัณโรคซึ่งเป็นปัญหาหลักด้านสาธารณสุขในกลุ่มประเทศกำลังพัฒนา ทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าที่ไวต่อไอออนถูก พัฒนาเพื่อตรวจวัดปริมาณโปรตีน Ag85B ซึ่งเป็นโปรตีนที่หลั่งออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ในขณะที่เชื้อวัณโรคมีการเจริญเติบโต เนื่องจากประสิทธิภาพการทำงานของ ทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าที่ไวต่อไอออนขึ้น อยู่กับชนิดของวัสดุที่ใช้เป็นแผ่นตรวจจับและวิธีการตรึงสารชีวโมเลกุล ดังนั้นชนิดของแผ่นตรวจจับและวิธีการตรึงสารชีวโมเลกุล ถูกนำมาศึกษาและเปรียบเทียบ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม ต่อการ พัฒนาทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าที่ไวต่อไอออน โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อโปรตีน Ag85B ชนิด AM85B-5 และ AM85B-8 ถูกตรึงบนแผ่นตรวจจับ ของทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าที่ไวต่อไอออน จากการทดลองพบว่าทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าที่ไวต่อไอออนชนิด AM85B-5 และ AM85B-8 สามารถวัดปริมาณโปรตีน Ag 85B ในช่วง 0.12-1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ 0.18-1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับเมื่อนำทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าที่ไวต่อไอออนชนิด AM85B-5 เพื่อตรวจวัดปริมาณโปรตีน Ag85B ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ชนิดเหลวของ เชื้อวัณโรคและเชื้อไมโครแบคทีเรียชนิดอื่นๆ พบว่าทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าที่ไวต่อไอออนดังกล่าวมีความจำเพาะต่อโปรตีน Ag85B ที่หลั่งจากเชื้อวัณโรคมากกว่าเชื้อไมโครแบคทีเรีย ชนิด อื่นๆ ดังนั้นทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าที่ไวต่อไอออนชนิด AM85B-5สามารถ ฝังในระบบการเพาะเลี้ยง เพื่อบ่งชี้ การเจริญเติบโตของเชื้อวัณโรค ซึ่งสามารถลดระยะเวลาในการวินิจฉัยวัณโรคได้ในอนาคต

Copyright by Mahidol University

193 หน้า