



ความก้าวหน้าของเทคโนโลยีไบโอเซนเซอร์: นวัตกรรมสู่โลกอนาคต

Advances in Biosensor Technology: Innovation to the Future

ปนัดดา อเนกเวียง¹ และ รินา ภัทรมานนท์^{1,2*}

บทคัดย่อ

การพัฒนาเทคนิคสำหรับตรวจวัด วินิจฉัยโรค ที่เรียกว่า “ไบโอเซนเซอร์” ในปัจจุบันกำลังได้รับความสนใจจากนักวิจัยและนักประดิษฐ์เป็นอย่างมาก เนื่องจากมีข้อดีหลายประการ ขณะที่วิธีแบบเดิมเช่น เทคนิค GC, HPLC, microsphere-based arrays, radioimmunoassay (RIA) และ ELISA ยังมีข้อจำกัดในแง่ของระยะเวลา การตรวจวัด ค่าใช้จ่าย ขั้นตอนที่ยุ่งยาก และเกี่ยวข้องกับการใช้สารเคมีอันตราย เป็นต้น นอกจากนี้แม้จะมีการพัฒนาชุดทดสอบอย่างง่าย (test strip) เช่น ชุดตรวจการตั้งครรภ์ ซึ่งสามารถใช้ได้ง่ายและสะดวก แต่ใช้ได้เฉพาะการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ สำหรับการตรวจวัดเพื่อวินิจฉัยโรคหรือสารเคมีบางชนิด ในบางครั้งจำเป็นที่จะต้องตรวจวัดเชิงปริมาณเพื่อบ่งบอกความแตกต่างของระดับสารได้แม้ในปริมาณที่น้อย หรือ สามารถบ่งชี้โรคได้ในระยะปฐมภูมิ เช่น สาร fetoprotein ในซีรัมมนุษย์ ตัวบ่งชี้มะเร็งตับปฐมภูมิ และ carcinoembryonic ตัวบ่งชี้มะเร็งลำไส้ เป็นต้น เพื่อเป็นการปรับปรุงข้อบกพร่องดังกล่าว จึงได้มีการวิจัยและพัฒนาทางด้านไบโอเซนเซอร์หรือชุดตรวจขนาดเล็กที่มีความไวสูงอย่างต่อเนื่อง ได้แก่ การประดิษฐ์เครื่องมือแปลผลแบบพกพาเพื่อการวิเคราะห์เชิงปริมาณสำหรับ test strip การพัฒนาเซนเซอร์ด้านเคมีไฟฟ้า การสร้างห้องแล็บบนชิป ห้องแล็บจิ๋วบนกระดาษ ตลอดจนสามารถนำเทคโนโลยีกล้องโทรศัพท์มือถือมาใช้ในการวินิจฉัยโรค ซึ่งในอนาคตวิธีแบบเดิมอาจจะถูกทดแทนด้วยวิธีใหม่ก็เป็นได้ เพราะด้วยต้นทุนในการผลิตที่ลดลง ขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ใช้เวลาเพียงไม่กี่นาทีก็ทราบผล นอกจากนี้เครื่องมือในการแปลผลยังมีขนาดเล็ก เหมาะกับการเป็นวิธีตรวจทางห้องปฏิบัติการ ณ จุดดูแลผู้ป่วย (point-of-care) และ ใช้พื้นที่ขนาดเล็ก (point-of-site) แม้ในปัจจุบันยังจำเป็นที่จะต้องใช้วิธีการตรวจวัดแบบเดิมอยู่นั้น แต่เมื่อไบโอเซนเซอร์ถูกพัฒนาให้สามารถตรวจวัดตัวบ่งชี้ด้านชีวภาพได้มากมายหลายชนิดเท่าที่วิธีแบบเดิมเคยมีมา เมื่อนั้นก็จะเป็นประโยชน์ต่อมนุษย์ในโลกอนาคตอย่างยิ่ง

¹ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

²ศูนย์วิจัยโปรตีนและโปรตีโอมิกส์เพื่อการพาณิชย์และอุตสาหกรรม (ศปพ.) มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

*Corresponding Author, E-mail: narin@kku.ac.th

ABSTRACT

Development of diagnostic technique called biosensor is currently of great interest for researchers and inventors for their many advantages. Using laboratory instruments like GC, HPLC, microsphere-based arrays, RIA, and ELISA for diagnostics has limitations in terms of time, cost, several steps, and hazardous chemicals. In addition, although current diagnostic test kits like pregnancy test kit are available and very easy to use, it is only a qualitative determination. Diagnosis of other biomarkers or chemicals sometimes requires a quantitative means to differentiate the quantity even in trace amount, or to indicate early stage of the diseases. For examples, fetoprotein is a biomarker of hepatocellular carcinomas in serum and carcinoembryonic antigen of carcinoembryonic. Research and development in biosensors or small diagnostic test kit with high sensitivity have been continually improved. Those consist of the invention of a portable analysis device for test strip quantities, electrochemical sensors, lab-on-a-chip, lab-on-a-paper and mobile application. It might in the future replace the traditional instruments due to reduced cost, easy-to-use, and knowing the result within minutes. In addition, the detectors for biosensor are usually small so it's ideal for point-of-care or point-of-site purpose. However, the current state-of-the-art instruments are nevertheless essentials since they are able to detect wide-ranges of biomarkers. We believe that once biosensors are developed for more markers as comparable to the traditional tools, it will bring exceedingly advanced benefit in disease diagnostics.

คำสำคัญ: ตัวบ่งชี้ด้านชีวภาพ ชุดทดสอบอย่างง่าย ไบโอเซนเซอร์ ห้องปฏิบัติการบนชิป ห้องปฏิบัติการบนกระดาษ อิมมูโนเซนเซอร์ทางเคมีไฟฟ้า

Keywords: Biomarkers, Test strip, Biosensors, Lab-on-a-chip, Lab-on-a-paper, Electro-immunochemistry

1. ตัวบ่งชี้ด้านชีวภาพและเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัด (biomarkers and diagnostic tools)

การวิเคราะห์ตัวบ่งชี้ด้านชีวภาพ ไม่ว่าจะเป็นการวินิจฉัยโรคต่าง ๆ การหาสารตกค้างในอาหารหรือสิ่งแวดล้อม โดยทั่วไปแล้ว วิธีที่ปฏิบัติกันอยู่เป็นประจำ (routine) คือ การใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ที่มีราคาแพงในการวิเคราะห์ ซึ่งขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่าง

และวิเคราะห์ผลยุ่งยาก ใช้เวลานาน ส่วนใหญ่เครื่องมือดังกล่าวมักมีขนาดใหญ่ ทำให้ไม่เหมาะสมในการเป็นวิธีตรวจทางห้องปฏิบัติการ ณ จุดดูแลผู้ป่วย (point-of-care) และใช้พื้นที่ขนาดเล็ก (point-of-site) ซึ่งถือเป็นเรื่องสำคัญเพราะการวินิจฉัยโรคควรทราบผลได้อย่างรวดเร็ว ง่าย สะดวก ใช้สารเคมีน้อยและไม่เป็นอันตราย รวมไปถึงสามารถใช้งานในภาคสนามได้ โดยเฉพาะตัวบ่งชี้ที่สำคัญบางชนิดที่มีผลต่อสังคมหรือวิถี-

ชีวิตของมนุษย์ เช่น โรคติดต่อ โรคภัยแรง สารเคมี อันตราย ตัวบ่งชี้ภาวะสุขภาพของพ่อแม่ก่อนการตั้งครรภ์ เป็นต้น

ตัวอย่างของตัวบ่งชี้ด้านชีวภาพและเทคนิคการตรวจวัดที่นิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบัน แสดงดังตารางที่ 1 กล่าวถึงตัวบ่งชี้เกี่ยวกับสภาวะความชรา หรือ ดัชนีชี้วัดความชรา (aging biomarkers) เป็นโมเลกุลที่เกิดจากทำลายสารชีวโมเลกุลในเซลล์ที่มีสภาวะผิดปกติอันเนื่องมาจากเซลล์มีอายุมากขึ้น เช่น ภาวะถูกออกซิไดส์เกินสมดุล (oxidative damage) และ ความเสียหายด้านพยาธิสรีรวิทยา (pathophysiological damage)

โดยเทคนิคเหล่านี้ล้วนแล้วแต่เป็นวิธีที่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง ไม่สามารถนำออกไปใช้นอกสถานที่ได้ และต้องอาศัยผู้ชำนาญการในการตรวจวัด จึงเป็นข้อจำกัดให้ใช้ได้เพียงในงานวิจัยวิทยาศาสตร์พื้นฐาน (basic science) ดังนั้นหากจะตรวจวัดตัวบ่งชี้ด้านชีวภาพบางชนิด อาจไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในเชิงพาณิชย์สำหรับประชาชนหรือภาคเอกชน เช่น สถานเสริมความงาม ที่ต้องมีต้นทุนต่ำและทราบผลได้ทันที หรือหน่วยงานด้านสุขภาพที่อาจจะต้องออกตรวจในภาคสนามให้กับชุมชน หรือมีลักษณะการเป็น point-of-care นั้นเอง

ตารางที่ 1 ตัวบ่งชี้สภาวะความชราและเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัด

ตัวบ่งชี้สภาวะความชรา	ชื่อย่อ	เทคนิคการตรวจวัด
Lipid-based		
Polyunsaturated fatty acids	PUFA	GC, HPLC
Conjugated dienes		UV/VIS
Hydrocarbon gases		GC
F ₂ -isoprostanes	PGF2	GC-MS, LC-MS(MS)
Oxystyrols		GC, GC-MS
Thiobarbituric acid reactive substances	TBARS	Fluorometrically
Malondialdehyde	MDA	HPLC
4-Hydroxy-2-trans-nonenal	HNE	UV, TLC, HPLC
Protein-based		
Protein bound carbonyls	PCO	ELISA, Western Blot
γ-Glutamic semialdehyde	GGs	HPLC
Aminoadipic semialdehyde	AAS	GC-MS
Lipofuscin		Autofluorescence
DNA-biomarkers		
8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine	8OHdG	Comet assay, HPLC, GC-MS, ELISA
DNA-adducts (I-compounds)		³² P-post-labeling
Telomere length		Electrophoresis
Antioxidative status		
Reduced glutathione	GSH	Spectroscopy
Oxidized glutathione	GSSG	Fluorometry
Uric acid	UA	Spectroscopy
Vitamin A, C and E		HPLC

ที่มา: ดัดแปลงจาก Voss and Siems (2006)

อย่างไรก็ตามเทคนิคที่ถือว่าใกล้เคียงกับการเป็น point-of-care มากที่สุด และเป็นที่ยอมรับใช้กันตามโรงพยาบาลในปัจจุบัน คือ เทคนิค enzyme-linked immunosorbent assay หรือ ELISA โดยสามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้หลายตัวอย่างในเวลาเดียวกัน แต่ก็ยังไม่สามารถเป็น point-of-care ได้จนกระทั่งมีวิธีที่ง่ายและสะดวกกว่าการทำ ELISA คือ ชุดทดสอบอย่างง่าย (test strip) ตัวอย่างเช่น ชุดตรวจการตั้งครรภ์ที่พบเห็นกันอย่างแพร่หลาย สามารถนำไปใช้เองที่บ้านได้ วิธีดังกล่าวสามารถใช้ได้กับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ ซึ่งตัวบ่งชี้อีกหลายชนิดจำเป็นที่จะต้องวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ เนื่องมาจากการวินิจฉัยโดยใช้ข้อมูลเชิงคุณภาพหรือกึ่งคุณภาพ (semi-quantitative) อาจไม่เพียงพอ ดังนั้นการพัฒนาเครื่องมือในการวิเคราะห์เชิงปริมาณสำหรับ test strip จึงเป็นสิ่งสำคัญ

2. ชุดทดสอบอย่างง่าย (test strip) ในปัจจุบันและเครื่องมือแปลผลเพื่อการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

การตรวจวัดสารด้วยชุดทดสอบอย่างง่าย (test strip) ถูกนำมาใช้ในเชิงพาณิชย์อย่างกว้างขวาง เช่น ชุดตรวจตั้งครรภ์ ชุดตรวจสารเสพติด หลักการเบื้องต้นคือการใช้อนุภาคทองคำเป็นตัวติดตามและเพิ่มสัญญาณ ชุดตรวจเหล่านี้เป็นวิธีที่เห็นผลได้ง่ายภายในระยะเวลาเพียงไม่กี่นาที ผู้ใช้สามารถตรวจวัดได้เองที่บ้านโดยไม่ต้องอาศัยความรู้ความชำนาญในการตรวจวัด และราคาไม่แพง อย่างไรก็ตามการตรวจวัดตัวบ่งชี้โรคที่มีปริมาณน้อยมาก ๆ และพยาธิสภาพของร่างกายขึ้นกับปริมาณของตัวบ่งชี้ นั้น อาจต้องใช้วิธีที่มีความไวเพิ่มมากขึ้นเพื่อตรวจวัดในเชิงปริมาณ โดย

ระดับสารที่แตกต่างกันสามารถใช้ระบุถึงความรุนแรงของโรคหรือสภาวะของร่างกายได้

การตรวจวัดด้วย test strip แม้จะทราบผลได้ด้วยตาเปล่า แต่ปริมาณสารที่แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย หรือการมีปริมาณสารที่ต่ำมาก ๆ การวิเคราะห์ผลด้วยตาเปล่าอาจไม่สามารถใช้ได้อีกต่อไป จึงได้มีการวิจัยผลิตเครื่องมือเพื่อใช้ในการแปลผล test strip ตรวจโรคไวรัสตับอักเสบบี ให้สามารถวัดปริมาณสารที่อยู่ในตัวอย่างได้ จากความเข้มของสีที่ปรากฏบนแผ่นสตริป โดยใช้เครื่องมือที่มี light-emitting diode หรือหลอด LED ฉายแสงสีเขียวลงไปยังแผ่นสตริป และวัดแสงที่สะท้อนกลับด้วยตัวตรวจจับ (detector) สำหรับวัดสัญญาณที่เกิดขึ้นในแต่ละตำแหน่งของแผ่นสตริป นั่นคือ ตำแหน่งควบคุม (control zone) และตำแหน่งตรวจวัด (test zone) สามารถนำไปเปรียบเทียบกับปริมาณสารมาตรฐานที่เพิ่มขึ้น และใช้ในการหาปริมาณสารในตัวอย่างได้ (Kim and Park, 2004)

เครื่องสแกนบันทึกภาพเป็นอุปกรณ์ที่เราใช้กันอยู่เป็นประจำในห้องทำงานที่ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ผล test strip โดยความเข้มของระดับของสีที่แตกต่างกันจากปริมาณของอนุภาคทองคำบน test strip สามารถใช้ในการตรวจวัดปริมาณของ α -fetoprotein ซึ่งเป็นสารบ่งชี้มะเร็งระดับ ด้วยการแปลผลจากคอมพิวเตอร์ที่ใช้โครงข่ายประสาทเทียม (artificial neural network) โดยผู้ออกแบบเรียกโปรแกรมเฉพาะนี้ว่า IAIS software (Chuang et al., 2004)

3. ไบโอมิเมติก

ไบโอมิเมติกเป็นอุปกรณ์ในการตรวจวัดและวิเคราะห์สารต่าง ๆ อย่างจำเพาะเจาะจง โดยประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนของไบโอรีเซพเตอร์

(bioreceptor) และตัววัดสัญญาณ ความจำเพาะเจาะจงของการตรวจวัดเนื่องมาจากส่วนของไบโอรีเซพเตอร์ เช่น เอนไซม์ แอนติบอดี เมื่อส่วนไบโอรีเซพเตอร์ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการตรวจวัดเกิดผลิตภัณฑ์ ก็จะทำให้ส่วนของตัววัดสัญญาณทำหน้าที่แปลงสัญญาณทางเคมี ฟิสิกส์ หรือชีวเคมี ให้เป็นสัญญาณทางไฟฟ้า เพื่อนำไปเก็บ แสดงผลข้อมูลกับเครื่องมือทางอิเล็กทรอนิกส์ที่เชื่อมต่อกับระบบ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ทางด้านการแพทย์ อุตสาหกรรม และสิ่งแวดล้อม โดยจะต้องมีความรวดเร็วในการตรวจวัด อีกทั้งมีขนาดเล็ก สามารถพกพาไปใช้ในภาคสนามได้ (โสภา, 2544) อย่างไรก็ตามได้มีการพัฒนาไบโอเซนเซอร์ในรูปแบบอื่น ๆ นอกเหนือจากที่กล่าวข้างต้น เช่น เครื่องมือแปลงผลเทคโนโลยีโทรศัพท์มือถือ การสร้างห้องปฏิบัติการบนกระดาษ ดังจะได้กล่าวรายละเอียดในลำดับถัดไป

4. การพัฒนา test strip และเครื่องมือแปลผลเพื่อการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

4.1 เครื่องมือแปลผลชนิดอ่านการเรืองแสง (fluorescence-based reader)

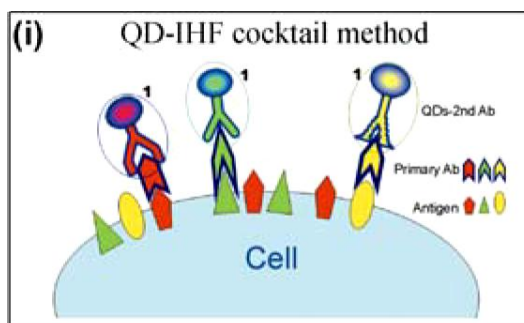
- test strip ระบบควอนตัมดอท

การผลิต test strip ส่วนใหญ่ในปัจจุบันใช้อนุภาคทองคำนาโนเป็นตัวติดตาม แต่จะเห็นได้ว่ามีรายงานการวิจัยการใช้สารเรืองแสงชนิดอินทรีย์ที่เรียกว่าควอนตัมดอท (quantum dot) มาช่วยเพิ่มสัญญาณและความไวในการตรวจวัด ซึ่งจะได้อธิบายถึง

สาเหตุที่อนุภาคควอนตัมดอทดังกล่าวสามารถนำมาใช้ประโยชน์ด้านการวินิจฉัยโรคได้

ควอนตัมดอท คือ สารเรืองแสงนาโนชนิดอินทรีย์แก๊นิก ประกอบด้วยธาตุแคดเมียม ซีลีเนียม หรือสังกะสี คุณสมบัติที่โดดเด่น คือ มีความสามารถในการเรืองแสงที่สูง มีความเสถียรต่อแสง เมื่อเปรียบเทียบกับสารเรืองแสงชนิดอินทรีย์แก๊นิก ซึ่งควอนตัมดอทดังกล่าวยังสามารถนำมาเชื่อมต่อกับสารชีวโมเลกุลอื่นด้วยพันธะโควาเลนต์ เช่น แอนติบอดี โปรตีน เพื่อประโยชน์ในการติดตามหรือตรวจวัดตัวบ่งชี้ด้านชีวภาพ (biomarkers)

การตรวจวัด biomarkers ในเนื้อเยื่อหรือเซลล์ เพื่อระบุตำแหน่งของสารนั้น ๆ ที่ถูกหลั่งออกมา ส่วนใหญ่มักใช้วิธีการส่องกล้องแล้วถ่ายภาพของสีย้อมเนื้อเยื่อ หรือใช้แอนติบอดีเชื่อมต่อกับสีย้อมหรือสารเรืองแสงเพื่อให้เกิดการจำเพาะเจาะจงมากขึ้น แต่ข้อเสียของการใช้สีย้อมหรือสารเรืองแสงทั่วไปคือมีการสลายตัวอย่างรวดเร็ว ดังนั้นการนำควอนตัมดอทมาใช้ในการติดตาม biomarkers จึงช่วยในแง่ความเสถียรและความไวของการตรวจวัด แสดงดังรูปที่ 1 ซึ่งเป็นการติดตามแอนติเจนหลาย ๆ ชนิดไปพร้อมกัน ด้วยการเชื่อมต่อแอนติบอดีตัวที่สองกับควอนตัมดอทที่ให้แสงสีต่าง ๆ กัน ให้เข้าจับกับแอนติบอดีตัวแรกที่จำเพาะกับแอนติเจน จากนั้นกระตุ้นให้ควอนตัมดอทเปล่งแสงและวัดสัญญาณด้วยเครื่อง olympus microscope พบว่าให้ประสิทธิภาพการเรืองแสงที่สูงและเสถียร แม้จะตรวจวัดแอนติเจนหลาย ๆ ชนิดพร้อมกันในครั้งเดียวก็ตาม (Huang et al., 2010)

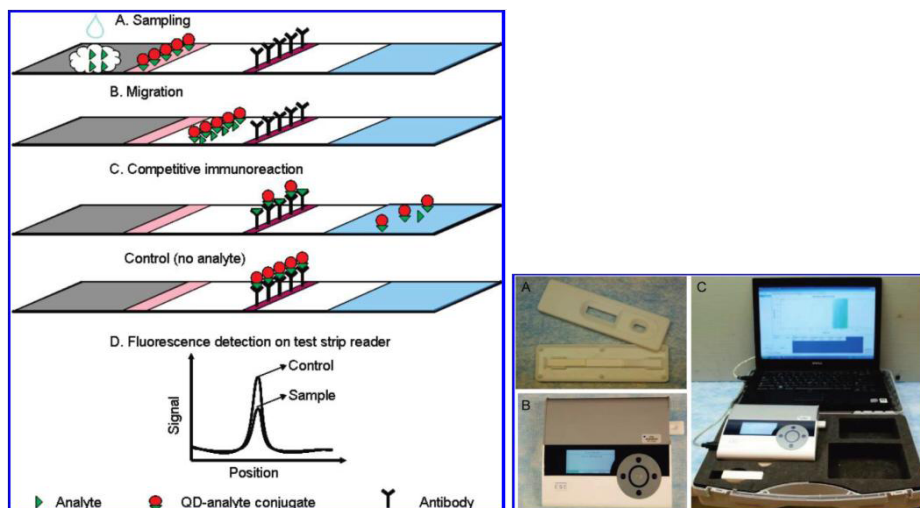


รูปที่ 1 การติดตามแอนติเจนชนิดต่าง ๆ ด้วยสารเรืองแสงควอนตัมดอท ในเนื้อเยื่อ carcinoma (Huang et al., 2010)

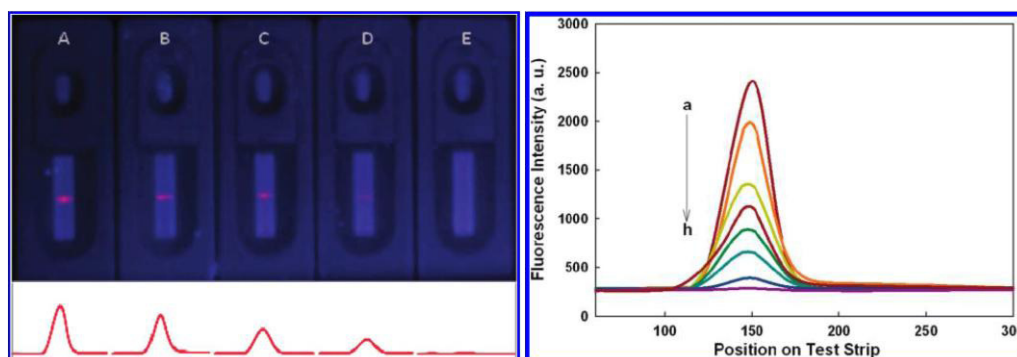
การย้อมเนื้อเยื่อด้วยควอนตัมดอทดังกล่าว เป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ แต่งานวิจัยเชิงปริมาณก็มีความสำคัญ ด้วยข้อดีของควอนตัมดอทที่ให้ความเข้มของแสงสูง และมีความเสถียร จึงเหมาะต่อการนำมาวิเคราะห์ biomarkers ที่มีปริมาณน้อย ๆ เพื่อเพิ่มความไวในการตรวจวัด เพราะวิธีการวินิจฉัยที่ผ่านมา เช่น microsphere-based arrays, proteome chips, radioimmunoassay (RIA), surface plasma resonance, microfluidic systems, ELISA, surface-enhanced Raman scattering เป็นต้น ยังคงมีข้อเสียหลายประการ กล่าวคือ ใช้สารประเภทรังสีซึ่งเป็นอันตราย ขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างยุ่งยาก ใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง และต้องตรวจวัดด้วยผู้ที่มีความรู้ความชำนาญ ดังนั้นการพัฒนาวิธีใหม่ขึ้นมาจะต้องลดขั้นตอนลง ใช้เวลาไม่นาน ราคาถูกลง และไม่จำเป็นต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการตรวจวัด อุปกรณ์สามารถพกพาไปใช้ในภาคสนามได้

ทั้งนี้ ได้มีงานวิจัยนำสารเรืองแสงควอนตัมดอทมาใช้วิเคราะห์สารในเชิงปริมาณ คือ การวัด trichloropyridinol ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากเมแทบอลิ-

ไลต์เมื่อมีการเข้าสู่ร่างกายของ chlorpyrifos ที่พบในยาฆ่าแมลง การทดสอบสามารถทำได้ง่าย โดยใช้หลักการคล้ายกับชุดตรวจการตั้งครรภ์ แต่สามารถวิเคราะห์ปริมาณสารได้ด้วยเครื่องอ่านการเรืองแสงบน test strip (test strip reader) แสดงดังรูปที่ 2 (ขวา) ที่ถูกออกแบบมาให้มีขนาดเล็ก ซึ่งจะแปลงความเข้มแสงให้อยู่ในรูปตัวเลขบอกปริมาณ หลักการทำงาน (รูปที่ 2 ซ้าย) คือ แอนติบอดี (captured antibody) ถูกเคลือบบนแผ่นไนโตรเซลลูโลสในตำแหน่งที่เรียกว่า test zone เมื่อหยดตัวอย่างลงบน test strip หรือแผ่นสตริป ตัวอย่างซึ่งมีแอนติเจนก็จะเคลื่อนที่มายัง test zone พร้อมด้วยตัวคอนจูเกต ที่สร้างขึ้นจากการเชื่อมต่อแอนติเจนกับควอนตัมดอท หรือที่เรียกว่าตัวแข่งขัน (competitor) ถ้าหากในตัวอย่างมีปริมาณแอนติเจนน้อย ตัวแข่งขันก็จะเข้าจับแอนติบอดีได้มาก ทำให้ความเข้มแสงจากควอนตัมดอทสูงกว่า เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่มีปริมาณแอนติเจนสูง อ่านผลด้วยเครื่องอ่านแผ่นสตริปซึ่งเชื่อมต่อเข้ากับโน้ตบุ๊กคอมพิวเตอร์ (Zou et al., 2010)



รูปที่ 2 หลักการตรวจวัด trichloropyridinol บนแผ่นสตริป (ซ้าย) (A) คือ การหยดสารตัวอย่างลงบนแผ่นสตริป (B) คือ สารตัวอย่างที่มีแอนติเจนและคอนจูเกตเคลื่อนที่บนแผ่นสตริป (C) คือ แอนติเจนและคอนจูเกตเคลื่อนที่มาจับกับแอนติบอดีที่ตำแหน่ง test zone และ (D) คือ สัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดเปรียบเทียบกับตัวควบคุม (control) ในที่นี้ คือ คอนจูเกตหรือตัวแข่งขันเข้าจับกับแอนติบอดี 100 % และเครื่องอ่านการเรืองแสงบนแผ่นสตริป (ขวา) (A) คือ ถลับใส่แผ่นสตริป (B) คือ การนำสตริปจาก (A) เข้าเครื่องอ่านการเรืองแสง และ (C) คือ การเชื่อมต่อเครื่องอ่านการเรืองแสงเข้ากับโน้ตบุ๊กคอมพิวเตอร์ (Zou et al., 2010)

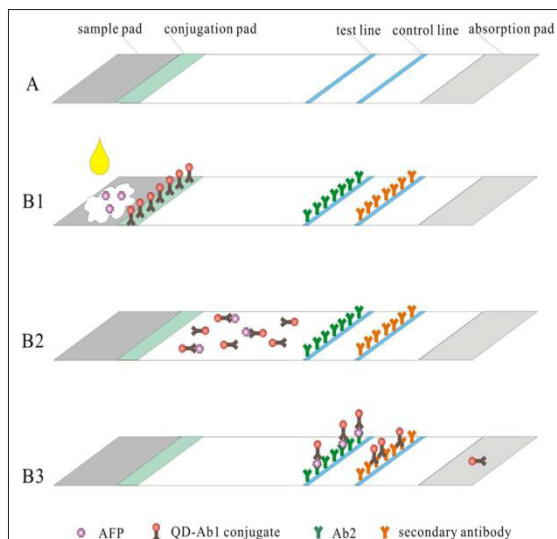


รูปที่ 3 (ซ้าย) แสดงผลการตรวจวัดโปรตีน nitrated ceruloplasmin จากเครื่องอ่านการเรืองแสงบนแผ่นสตริป เมื่อความเข้มข้นของ nitrated ceruloplasmin เป็น (A) 10 µg/ml, (B) 1 µg/ml, (C) 100 ng/ml, (D) 10 ng/ml และ ceruloplasmin ที่ไม่เกิด nitration (E) 10 µg/ml และ (ขวา) คือ กราฟที่ได้จากการตรวจวัดโปรตีน nitrated ceruloplasmin 10 µg/ml - 1 ng/ml (a-g ตามลำดับ) และ ceruloplasmin 10 µg/ml (h) (Li et al., 2010)

นอกจากนี้ได้มีการตรวจวัดตัวบ่งชี้โรคหลอดเลือด มะเร็งปอด และภาวะเครียดจากการสูบบุหรี่ คือ ceruloplasmin ที่มีการเติมหมู่ไนโตรเจน (nitration) หรือเรียกว่า nitrated ceruloplasmin หลักการมีความคล้ายคลึงกับวิธีก่อนหน้า แต่ควอนตัมดอทจะถูกเชื่อมต่อกับแอนติบอดีโดยตรงแทนการสร้างตัวแข่งขัน ซึ่งจะมีแอนติบอดีบริเวณ test zone และอ่านผลความเข้มแสงของควอนตัมดอทด้วยเครื่องอ่านแผ่นสตริป เช่นเดียวกัน ผลการตรวจวัดแสดงดังรูปที่ 3 (ซ้าย) สัญญาณที่ได้แสดงผลดังรูปที่ 3 (ขวา) เมื่อความเข้มข้นของโปรตีน nitrated ceruloplasmin ลดลง 10 $\mu\text{g/ml}$ - 1 ng/ml จะทำให้ความเข้มแสงลดลง (กราฟ a-g ตามลำดับ) และไม่แสดงผลสำหรับโปรตีน ceruloplasmin ที่ไม่เกิด nitration (กราฟ h) (Li et al., 2010)

การใช้ประโยชน์จากเครื่องอ่านแผ่นสตริปดังกล่าวยังสามารถนำไปใช้ในการวินิจฉัยโรคร้าย

อย่างเช่น มะเร็ง ซึ่งความไวในการตรวจวัดถือเป็นสิ่งสำคัญ เพราะการตรวจพบได้ในระยะต้น ๆ จะทำให้สามารถรักษาได้ทันทั่วทั้งที่ ซึ่งส่วนใหญ่จะตรวจพบได้ในระยะท้าย ๆ ตัวอย่างเช่นการตรวจสอบ alpha fetoprotein ในซีรัมมนุษย์ ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้มะเร็งตับระยะแรก (primary hepatic carcinoma) ถือว่าเป็นประโยชน์ในด้านการรักษาอย่างยิ่ง หลักการตรวจวัด alpha fetoprotein บนแผ่นสตริปแสดงดังรูปที่ 4 โดยแอนติบอดี-ควอนตัมดอทจับกับแอนติเจนในสารตัวอย่าง เคลื่อนที่มาจับกับแอนติบอดีอีกตัว (capture antibody) บนตำแหน่ง test zone ส่วนแอนติบอดี-ควอนตัมดอทที่มากเกินไปจะถูกดักจับด้วยแอนติบอดีที่อยู่ตำแหน่ง control zone ซึ่งตำแหน่งนี้ใช้สำหรับทดสอบประสิทธิภาพในการวัดให้แน่ใจว่าสารได้เกิดการเคลื่อนที่บนแผ่นสตริปจริง จากนั้นก็จะวัดปริมาณสารด้วยเครื่องอ่านแผ่นสตริป (Yang et al., 2011)



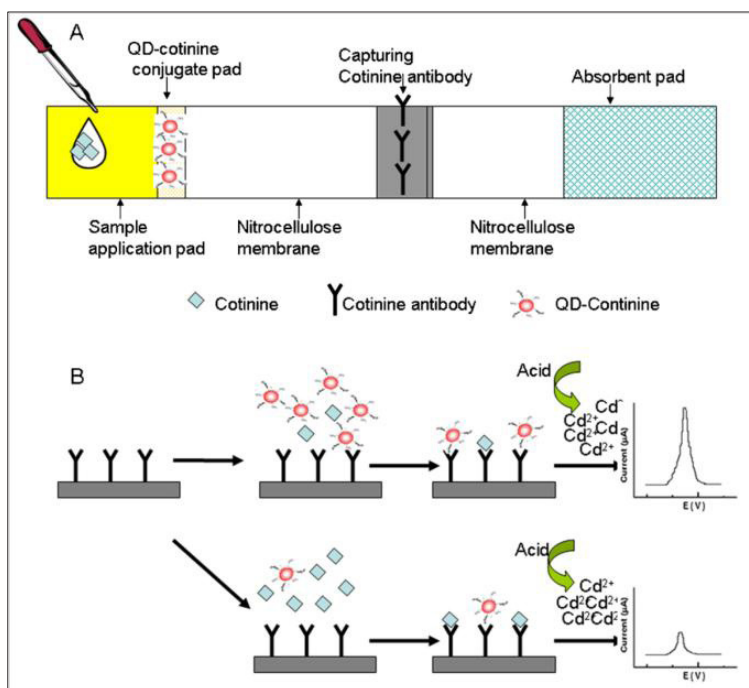
รูปที่ 4 หลักการแยก alpha fetoprotein บนแผ่นสตริปอย่างจำเพาะเจาะจง ก่อนวัดด้วยเครื่องอ่านแผ่นสตริป (A) คือ ส่วนประกอบของชุดสตริป, (B1) คือ การหยดสารตัวอย่างลงบนแผ่นสตริป, (B2) แอนติเจนในสารตัวอย่างจับกับคอนจูเกต (แอนติบอดี-ควอนตัมดอท) และเคลื่อนที่บนแผ่นสตริป และ (B3) คือ โมเลกุลคอมเพล็กซ์ที่เกิดขึ้นบนตำแหน่ง test zone และ control zone (Yang et al., 2011)

4.2 เครื่องมือแปลผลชนิดเคมีไฟฟ้า (electrochemical-based reader)

- test strip ระบบควอนตัมดอท

การตรวจวัดปริมาณสารดังตัวอย่างข้างต้น ถือเป็นการรวมคุณสมบัติที่ีระหว่างสองสิ่ง นั่นคือการวัดด้วย test strip ซึ่งใช้เวลารวดเร็วเพียงไม่กี่นาที ก็สามารถแยกสารได้อย่างจำเพาะด้วยแอนติบอดีบนแผ่นสตริป ไม่ต้องเสียเวลายุ่งยากในการเตรียมตัวอย่าง และคุณสมบัติของควอนตัมดอทที่ให้การเรืองแสงที่ดีซึ่งใช้เป็นตัวติดตาม โดยวัดความเข้มแสงของควอนตัมดอทบนแผ่นสตริป นอกจากจะมีการใช้เครื่องอ่านผลในลักษณะนี้แล้ว ยังได้มีการวัดสารก่อมะเร็ง

cotinine ซึ่งเป็นเมแทบอลิท์ของ nicotine ที่พบในใบยาสูบ ด้วยเทคนิคเคมีไฟฟ้ามาใช้ในการตรวจวัดสัญญาณของควอนตัมดอท ด้วยการสร้างควอนตัมดอทเป็นคอนจูเกต หรือตัวแข่งขัน ตำแหน่ง test zone ซึ่งมีแอนติเจนหรือคอนจูเกตจับกับแอนติบอดีจะถูกตัดออกมา และเติมกรดเพื่อให้แคดเมียมไอออนที่เป็นสารประกอบของควอนตัมดอทถูกปลดปล่อยออกมาโดยไอออนดังกล่าวที่อยู่ในสารละลายจะไปรับอิเล็กตรอนบนผิวหน้าอิเล็กโทรดของเครื่องวัดทางเคมีไฟฟ้า ทำให้เกิดสัญญาณไฟฟ้าที่เกิดขึ้นตามสัดส่วนของแคดเมียมไอออนนั่นเอง (Nian et al., 2011)

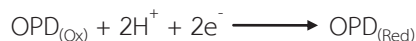


รูปที่ 5 การหาปริมาณ cotinine ด้วยการวัดสัญญาณเคมีไฟฟ้าของควอนตัมดอทจากแผ่นสตริป (A) คือ องค์ประกอบต่าง ๆ บนชุดสตริป และ (B) คือ โมเลกุลคอมเพล็กซ์ที่เกิดขึ้นบนแผ่นสตริปและสัญญาณที่ตรวจวัดได้ เมื่อปริมาณ cotinine ต่ำ (แถวบน) และปริมาณ cotinine สูง (แถวล่าง) (Nian et al., 2011)

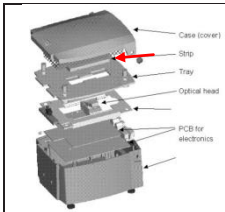
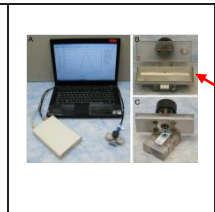
- test strip ระบบเอนไซม์

แม้ว่าคอนดัคตอมิเตอร์จะช่วยเพิ่มความไวของสัญญาณเคมีไฟฟ้า แต่การใช้สารละลายกรดเข้มข้นสำหรับละลายแคดเมียมไอออนออกมาจากแผ่นสตริปส่งผลเสียต่อแผ่นอิเล็กโทรดเมื่อทำการตรวจวัด ทำให้ประสิทธิภาพในการใช้งานลดลงเร็วขึ้น นอกจากนี้การใช้คอนดัคตอมิเตอร์สร้างเป็นคอนจูเกต ยังส่งผลให้การเคลื่อนที่บนแผ่นสตริปเกิดได้ไม่ตันทัก จึงได้มีการนำระบบเอนไซม์มาสร้างเป็นตัวคอนจูเกต โดยการเชื่อมต่อเอนไซม์ horseradish peroxidase (HRP) กับแอนติบอดี เพื่อใช้เป็นตัวติดตามบนแผ่นสตริป เมื่อหยดสารตัวอย่างลงบนแผ่นสตริป แอนติเจนที่อยู่ในสารตัวอย่างก็จะจับกับตัวคอนจูเกตและเคลื่อนที่ไปบนแผ่นสตริปจนถึงตำแหน่ง test zone ก็จะถูกดักจับไว้

ด้วย captured antibody ตำแหน่งดังกล่าวจะถูกตัดออกมาแล้วหยดสารละลายสับสเตรท o-phenyldiamine (OPD) ที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เมื่อสับสเตรท OPD ถูกกระตุ้นด้วยการทำงานของเอนไซม์ HRP ร่วมกับ H_2O_2 สับสเตรทจะถูกเปลี่ยนจากรูปรีดิวซ์ไปอยู่ในรูปออกซิไดซ์ดังสมการข้างล่าง รูปออกซิไดซ์ดังกล่าวจะไปรับอิเล็กตรอนจากแผ่นอิเล็กโทรด ผลทางเคมีไฟฟ้าจากระบบการทำงานของเอนไซม์จะถูกวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือที่ประกอบด้วยระบบ flow cell เพิ่มเติม สำหรับอ่านผลบนแผ่นสตริป (Zou et al., 2012)



ตารางที่ 2 แสดงเครื่องมือแปลผล test strip เพื่อวินิจฉัยโรค

				
คอนจูเกต (ตัวติดตาม)	ใช้ระบบแสงอ่านสตริปตรวจ Hepatitis B สำเร็จรูป	Trichloropyridinol-QDs 	Cotinine-QDs 	Antibody-HRP 
ความสามารถในการวัดปริมาณ	Hepatitis B 2.0 ng/ml	Trichloropyridinol 1.0 ng/ml	Cotinine 1.0 ng/ml	Hepatitis B 0.3 ng/ml
เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาและเวลาในการตรวจวัด	- -	15 นาที -	10 นาที 3 นาที	15 นาที 10 นาที
ข้อดี	รวดเร็ว ความไวสูง ราคาถูก	รวดเร็ว ความไวสูง ราคาถูก เครื่องมือวัดพกพาได้	รวดเร็ว ความไวสูง ราคาถูก	รวดเร็ว ความไวสูง ราคาถูก เครื่องมือวัดพกพาได้
ข้อเสีย	เครื่องมืออาจต้องใช้ประจำที่ ห้องปฏิบัติการ	-	การใช้กรดรุนแรงในการละลายคอนดัคตอมิเตอร์จากแผ่นสตริปก่อนการตรวจวัด ส่งผลต่อประสิทธิภาพของแผ่นอิเล็กโทรดหากใช้งานบ่อยครั้ง เครื่องมืออาจต้องใช้ประจำที่ ห้องปฏิบัติการ	-
อ้างอิง	Kim and Park (2004)	Zou et al. (2010)	Nian et al. (2011), ภาพจาก http://www.etsingplating.com.cn/english/equipment.asp	Zou et al. (2012)

หมายเหตุ:  แสดงบริเวณที่ใส่แผ่นสตริปสำหรับเครื่อง test strip reader

5. การปรับปรุงพื้นผิวอิเล็กทรอนิกส์สำหรับเซนเซอร์เคมีไฟฟ้า

นอกจากการสร้างอันตรกิริยาระหว่างแอนติเจนแอนติบอดีบนแผ่นสตริป เพื่อแยกเฉพาะสารที่เราต้องการตรวจวัด และการสร้างคอนจูเกตด้วยระบบควอนตัมดอท หรือเอนไซม์ แล้วนำไปอ่านผลด้วยเครื่องมือที่ถูกสร้างขึ้นมาเพื่ออ่านความเข้มแสงจากควอนตัมดอทหรือระบบเคมีไฟฟ้าจากการทำงานของเอนไซม์ ยังได้มีการพัฒนาเทคนิคที่ตรวจวัดด้วยระบบเคมีไฟฟ้า เพื่อให้มีสัญญาณที่ดีขึ้น นั่นคือการปรับปรุงผิวหน้าของแผ่นอิเล็กทรอนิกส์เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นและวัดบนผิวหน้าอิเล็กทรอนิกส์ได้โดยตรง มีการพัฒนาเทคนิคในการวินิจฉัยโรคมาเร็งลำไส้ ด้วยการสร้างชั้นเมมทริกซ์บนแผ่นอิเล็กทรอนิกส์ สำหรับใช้ในการเคลือบคอนจูเกตต่อไป ซึ่งคอนจูเกตก็คือแอนติบอดีต่อ carcinoembryonic antigen ที่เชื่อมต่อกับเอนไซม์ HRP เมื่อทำการตรวจวัด แอนติเจนก็จะเข้าจับอย่างจำเพาะกับแอนติบอดีบนเมมทริกซ์ การเข้าจับนี้เองจะไปปรบกววนบริเวณเร่ง (active site) ของเอนไซม์ HRP เมื่อวัดปฏิกิริยาในสารละลายสับสเตรทจึงส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์ลดลง ดังนั้นเมื่อมีปริมาณแอนติเจนสูง ๆ สัญญาณเคมีไฟฟ้าที่ทำการตรวจวัดก็จะลดลง โดยเป็นการแปรผกผันกับความเข้มข้นของแอนติเจน (Zhang et al., 2008) อย่างไรก็ตามยังสามารถปรับปรุงผิวหน้าอิเล็กทรอนิกส์ด้วยการตรึงสับสเตรทให้ยึดเกาะบนผิวหน้าของอิเล็กทรอนิกส์โดยตรงแทนการวัดปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้าในสารละลายของสับสเตรท (Dai et al., 2005)

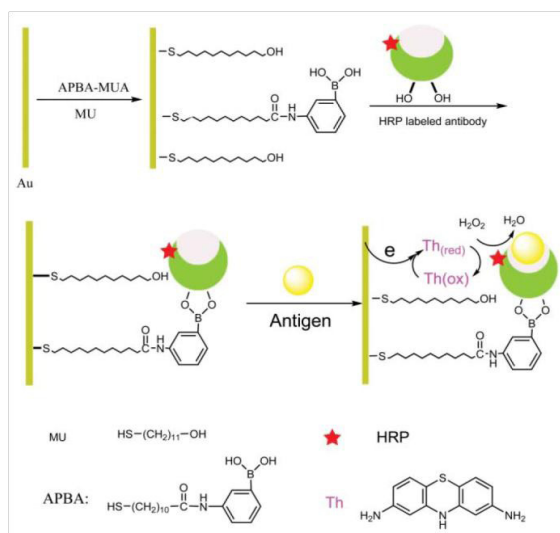
มีการผสมผสานระหว่างกระดาษที่มีคุณสมบัติพิเศษและแผ่นอิเล็กทรอนิกส์ในการวัดสาร dopamine ด้วยการประกอบเป็นสามชั้น (three layers) ดังรูปที่ 7 ชั้นแรก คือ กระดาษที่มีหลุมวงกลม

สำหรับหยดสารตัวอย่าง และกักเก็บเฉพาะสารที่มีคุณสมบัติเป็นไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) เท่านั้น ถือเป็นการเพิ่มความเข้มข้นของสารก่อนการตรวจวัด จากนั้นย้ายตำแหน่งที่หยดสารของชั้นแรกให้ตรงกับบริเวณโพรง (2^{nd} hole ดังรูป ii) ของกระดาษชั้นที่ 2 และหยดสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบ (anionic surfactant) คือ sodium dodecyl sulfate (SDS) เพื่อให้เกิดแรงอิเล็กโตรสแตติก (electrostatic) กับ dopamine ในสารตัวอย่างซึ่งมีประจุบวก (cationic) ปฏิกิริยาดังกล่าวทำให้เกิดออกซิเดชันพีค (oxidation peak) ที่เกิดการเลื่อนสัญญาณ (shift) ไปจากเดิมที่มีเพียง dopamine แต่ไม่มี SDS ตรวจวัดสัญญาณโดยชั้นที่ 3 นั่นคือแผ่นอิเล็กทรอนิกส์ การ shift ที่เกิดขึ้นนี้มีประโยชน์ในการวัดสาร dopamine ได้อย่างจำเพาะเนื่องจากมี potential ใกล้เคียงกับ ascorbic acid และ uric acid โดยพบได้ในสารตัวอย่างเช่นกัน อีกทั้งยังมีปริมาณสูงกว่า dopamine (Rattanasat et al., 2012)

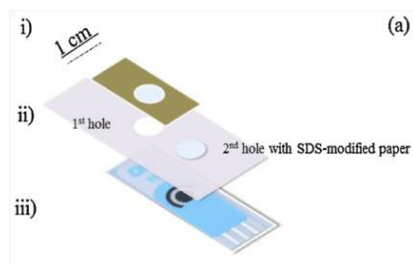
มีการนำวัสดุหลายชนิดมาช่วยในการปรับปรุงผิวหน้าอิเล็กทรอนิกส์ ตัวอย่างเช่น การนำกราฟีนมาช่วยเพิ่มความไวของสัญญาณเคมีไฟฟ้า และเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกาะติดของแอนติบอดี เนื่องจากกราฟีนมีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้าได้ดี ราคาถูก แยกได้จากกราไฟต์หรือไส้ดินสอ กราฟีนเรียกได้ว่าเป็นวัสดุมหัศจรรย์ ถูกค้นพบในปี 2004 โดย Geim และ Novoselov อาจารย์และลูกศิษย์จากมหาวิทยาลัยแมนเชสเตอร์ หลังจากนั้นเพียงไม่กี่ปีก็ได้รับรางวัลโนเบล (ปี 2010) เป็นวัสดุที่บางที่สุดเนื่องจากหนาเพียงอะตอมเดียว การจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบของอะตอมคาร์บอนนี้ทำให้กราฟีนเป็นวัสดุที่นำไฟฟ้าได้ดีมากที่สุดอุณหภูมิห้อง (Geim and Novoselov, 2007; Geim, 2009; Chartarrayawadee et al., 2012) การ

พัฒนาเซนเซอร์โดยการนำกราฟีนเคลือบบนผิวหน้าอิเล็กโทรด เพื่อใช้เป็นเมทริกซ์สำหรับให้แอนติบอดีที่จำเพาะต่อ phospho-p53¹⁵ ซึ่งบ่งชี้ภาวะโรคมะเร็งเกาะติดกับแผ่นอิเล็กโทรด หลักการของการตรวจวัดคือแอนติเจนเข้าจับอย่างจำเพาะกับ captured

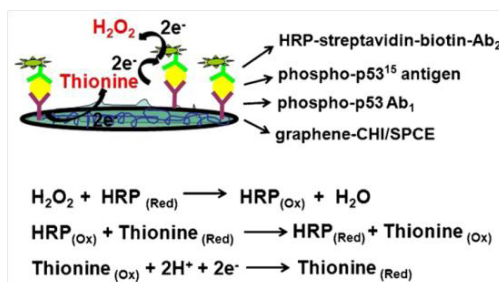
antibody ที่เคลือบอยู่บนแผ่นอิเล็กโทรด จากนั้นติดตามผลด้วยแอนติบอดีตัวที่สองที่มีเอนไซม์ HRP เชื่อมต่ออยู่ วัดสัญญาณเคมีที่เกิดขึ้นจากการทำงานของเอนไซม์ HRP ในสารละลายสับสเตรท thionine (Xie et al., 2011)



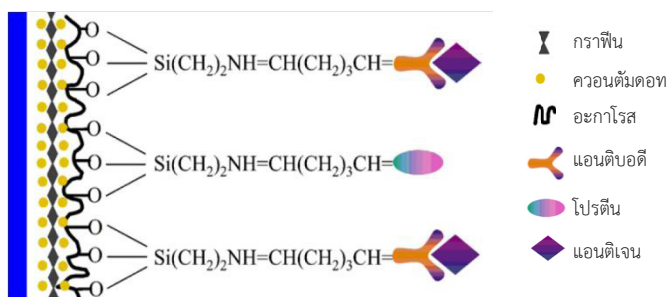
รูปที่ 6 หลักการตรวจวัด carcinoembryonic antigen ด้วยเทคนิคการปรับปรุงผิวหน้าอิเล็กโทรด (Zhang et al., 2008)



รูปที่ 7 แผ่นอิเล็กโทรดชนิด three layer สำหรับตรวจวัดสาร dopamine (i) และ (ii) คือ กระดาษชั้นที่ 1 และ 2 ประกอบเข้ากับแผ่นอิเล็กโทรดเป็นชั้นที่สาม (iii) (Rattanasarat et al., 2012)



รูปที่ 8 หลักการปรับปรุงเซนเซอร์บนผิวหน้าอิเล็กโทรดด้วยกราฟีน (Xie et al., 2011)



รูปที่ 9 หลักการปรับปรุงผิวหน้าอิเล็กโทรดสำหรับเทคนิค electrochemiluminescence (Guo et al., 2012)

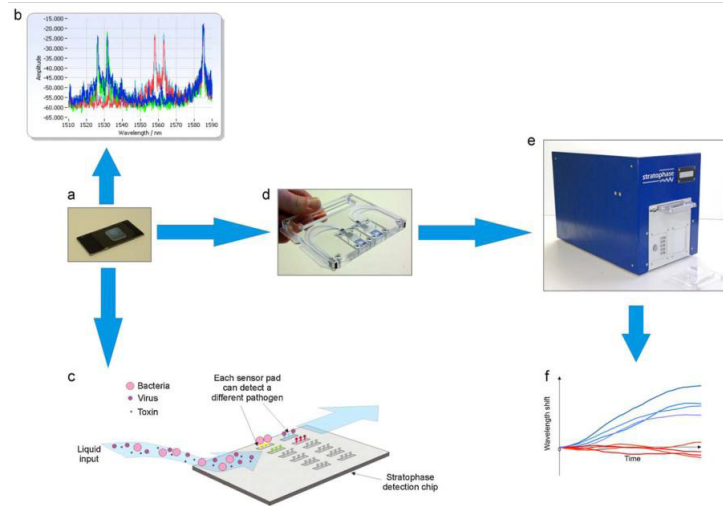
นอกจากนี้ได้มีการนำวัสดุกราฟีนมาพัฒนา ร่วมกับสารเรืองแสงควอนตัมดอท ที่เรียกว่าเทคนิค electrochemiluminescence ในการปรับปรุงผิวหน้า อิเล็กโทรด โดยใช้หลักการ fluorescence resonance energy transfer (FRET) กล่าวคือเป็น การถ่ายทอดพลังงานจากควอนตัมดอทไปยังกราฟีน สำหรับวัด alpha fetoprotein ในการบ่งชี้โรคมะเร็ง ด้วยระบบแอนติเจนแอนติบอดี แสดงดังรูปที่ 9 โดยใช้ พอลิเมอร์ช่วยในการยึดเกาะของแอนติบอดีบนแผ่น อิเล็กโทรด และเคลือบด้วยโพรตีนเพื่อลดการจับอย่าง ไม่จำเพาะ (non-specific binding) จากสารชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ต้องการตรวจวัด เมื่อเกิดโมเลกุลเชิงซ้อนของ แอนติเจนแอนติบอดีจึงทำให้กระแสเคมีไฟฟ้าลดลง เนื่องจากเกิดความเกาะก่ทำให้บดบังการถ่ายโอน อิเล็กตรอน (Guo et al., 2012)

การพัฒนาเทคนิคดังกล่าวข้างต้นยังถูก นำมาใช้กับระบบเอนไซม์สับสเตรทเพื่อวัด acetylcholine โดยจะถูกเปลี่ยนไปเป็น choline ด้วย เอนไซม์ acetylcholinesterase จากนั้น choline จะ ถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์ choline oxidase และ O_2 ดังนั้นปริมาณ O_2 ในระบบที่ลดลงนี้ ซึ่งทำหน้าที่เป็น co-reactant ของควอนตัมดอทก็จะลดลงด้วย ทำให้

สัญญาณเคมีไฟฟ้าลดลงแปรผกผันกับความเข้มข้นของ acetylcholine (Deng et al., 2011)

6. ห้องแลปจิวนชิป (lab-on-a-chip)

Lab-on-a-chip คือ อุปกรณ์ที่ถูกพัฒนาขึ้น สำหรับการวิเคราะห์วินิจฉัยโรค มีขนาดเล็กพกพาได้ ใช้สารเคมีปริมาณน้อยมาก เสมือนย่อส่วน ห้องปฏิบัติการมาวางอยู่บนชิป มีขนาดเล็กเพียงไม่กี่ ตารางเซนติเมตร ประกอบด้วยโปรแกรมและเส้นทาง ไหลเข้าออกของสาร และแปลผลด้วยเครื่องวัดสัญญาณ ต่อไป ตัวอย่างการสร้าง lab-on-a-chip เพื่อตรวจวัด ความเป็นกรด-เบส ด้วยหลักการของปฏิกิริยาการ สะเทิน (acid-base neutralization) กับ phenolphthalein ซึ่งเป็นอินดิเคเตอร์ (indicator) และวิเคราะห์ผลด้วยเครื่องวัดที่ถูกสร้างขึ้นจากระบบ กล้องจับภาพ (webcam camera) (Wongwilai et al., 2010) คุณสมบัติที่โดดเด่นอีกประการหนึ่งของ lab-on-a-chip คือ การตรวจวัดสารได้หลายชนิด พร้อมกันในครั้งเดียว ดังเช่นงานวิจัยของ Bhatta et al. (2011) รายงานการพัฒนาไบโอเซนเซอร์ตรวจหา เชื้อโรค 16 ชนิดในครั้งเดียว



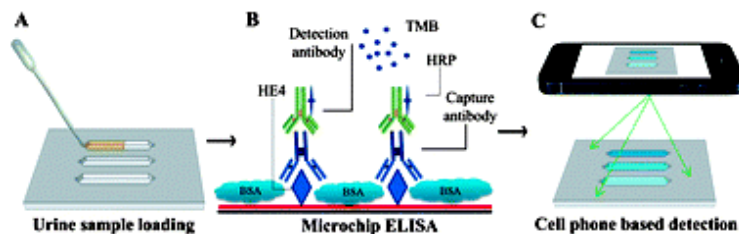
รูปที่ 10 อุปกรณ์และหลักการของไบโอเซนเซอร์ตรวจหาเชื้อโรค 16 ชนิดในครั้งเดียว (a) คือ แผ่นชิป (b) คือ สเปกตรัมของแสงที่ได้จากการตรวจวัดไบโอเซนเซอร์ (c) คือ หลักการตรวจวัดบนชิป (d) คือ disposable ใส่ชิป (e) คือ อุปกรณ์วัดแสงบนชิป และ (f) คือ สัญญาณที่ได้จากการตรวจวัด (Bhatta et al., 2011)

การสร้างไมโครชิป (microchip) ให้สามารถตรวจวัดสิ่งแปลกปลอมที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย 16 ชนิดได้ในเวลาเดียวกันด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนแต่ละชนิดเคลือบไว้บนไมโครชิป ภายในไมโครชิป 1 อัน (รูปที่ 10a) จะมี channel ทั้งหมด 8 ช่องสำหรับตรวจวัดแอนติเจน 8 ชนิด นำไมโครชิป 2 อันวางบน disposable (รูปที่ 10d) และตรวจวัดด้วยอุปกรณ์ SpectroSens™ (รูปที่ 10e) โดยการวัดแสงสะท้อนที่ความยาวคลื่นแตกต่างกัน แสดงสัญญาณดังรูป f สำหรับรูป b และ c คือสเปกตรัมของแสงของเซนเซอร์และหลักการของการตรวจวัดบนไมโครชิปตามลำดับ (Bhatta et al., 2011)

7. การประยุกต์ใช้โทรศัพท์มือถือในการวิเคราะห์โรค (mobile application)

งานวิจัยจากนักวิจัยมหาวิทยาลัยฮาร์เวิร์ดได้นำเทคโนโลยีกล้องโทรศัพท์มือถือเพื่อใช้ในการอ่านผล microchip ELISA (ไมโครชิป) ทำให้แพทย์วินิจฉัยโรค

ได้อย่างรวดเร็วโดยไม่ต้องรอผลตรวจจากห้องปฏิบัติการ งานวิจัยดังกล่าวได้ตรวจวัดสาร human epididymal protein 4 (HE4) ซึ่งบ่งชี้โรคมะเร็งเยื่อบุโพรงรังไข่ โดยนำตัวอย่างปัสสาวะมาหยดลงบนไมโครชิป ที่เคลือบแอนติบอดีต่อ HE4 ใช้หลักการ sandwich ELISA โดยมีระบบเอนไซม์ HRP และสับสเตรท 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) เป็นตัวติดตามปฏิกิริยา ความเข้มของสีจะเป็นตัวบ่งบอกถึงปริมาณสารที่มากน้อยต่างกัน ซึ่งวิเคราะห์ผลจากสีของภาพด้วยโปรแกรมที่เขียนขึ้นบนโทรศัพท์มือถือ Sony Ericson i790 ที่สามารถถ่ายภาพขนาดใหญ่สุดได้ 3.2 ล้านพิกเซล แนวคิดดังกล่าวถือเป็นประโยชน์อย่างยิ่งที่สามารถนำมาใช้ได้จริงในการวิเคราะห์โรค ด้วยอุปกรณ์ที่หาได้ง่าย ราคาไม่แพง สะดวกและรวดเร็ว นอกจากนี้การเชื่อมต่ออินเทอร์เน็ตผ่านโทรศัพท์มือถือเพื่อส่งต่อข้อมูลให้ผู้เชี่ยวชาญวิเคราะห์ผลยังทำได้สะดวกมากขึ้นอีกด้วย (Wang et al., 2011)



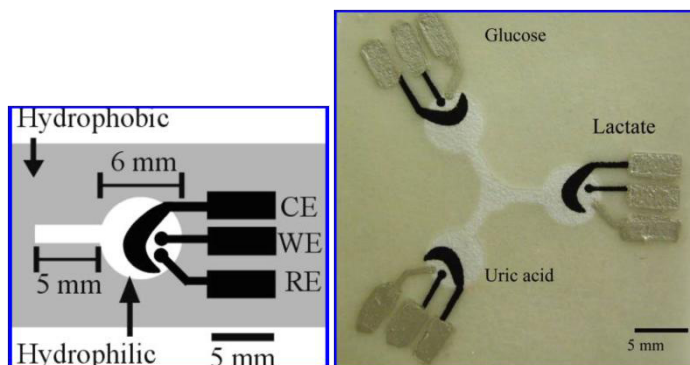
รูปที่ 11 หลักการวินิจฉัยโรคด้วยโทรศัพท์มือถือ (Wang et al., 2011)

8. ห้องแลปจิวนกระดาษ (lab-on-a-paper)

ข้อดีของการตรวจโรคแบบ lab-on-a-chip หรือห้องปฏิบัติการบนชิปที่สำคัญ คือ ใช้สารเคมีและตัวอย่างน้อย ประหยัดกว่าวิธีที่ใช้กันอยู่ปัจจุบัน และอุปกรณ์การตรวจวัดพกพาได้ ใช้งานสะดวก ไม่จำเป็นต้องทดลองโดยแพทย์หรือพยาบาลผู้เชี่ยวชาญ อย่างไรก็ตามห้องปฏิบัติการบนชิปต้องอาศัยพลังงานจากแบตเตอรี่ในการทำงานเพื่อขับเคลื่อนการไหลของตัวอย่างไปบน channel ของชิป นอกจากนี้วัสดุที่ใช้ในการทำชิป คือ แก้วหรือพลาสติกซึ่งมีต้นทุนสูงและย่อยสลายยาก นำมาสู่เทคโนโลยีใหม่ที่เรียกว่า lab-on-a-paper หรือห้องปฏิบัติการบนกระดาษ ซึ่งการใช้กระดาษแทนแก้วหรือพลาสติกจะช่วยลดต้นทุนและยังกำจัดได้ง่าย การใช้แรงดึงแคปิลลารีในเยื่อกระดาษในการเคลื่อนที่ของสารทำให้ไม่ต้องอาศัยพลังงานจากแบตเตอรี่ในการทำงาน เทคนิคดังกล่าวมีลักษณะคล้าย test strip ตรวจการตั้งครรภ์ แต่มีความซับซ้อนมากกว่านั้นคือสามารถตรวจหาโรคได้มากกว่า 1 ชนิดไปพร้อมกัน และล่าสุดได้มีการใช้เทคนิคแสงเลเซอร์วาดลวดลายช่องทางเดินของสารบนกระดาษซึ่งเป็นเทคนิคที่มีต้นทุนต่ำ โดยได้มีการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตชุดตรวจโรคเอดส์ที่มีต้นทุนเพียง 1 บาทต่อหนึ่งชุดตรวจ สีที่ปรากฏสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า หรือ

อาจจะวิเคราะห์ผลเบื้องต้นด้วยโปรแกรมที่เขียนขึ้นบนโทรศัพท์มือถือก็สามารถทำได้ การตรวจโรคด้วยเทคนิค lab-on-a-paper ถือว่ามีความสำคัญอย่างมากในการนำไปใช้ในพื้นที่ห่างไกลความเจริญซึ่งไม่ต้องใช้ไฟฟ้าหรือแบตเตอรี่ในการทำงาน และจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในอนาคตในการช่วยเหลือผู้คนได้มากมาย (อดิสร, 2554)

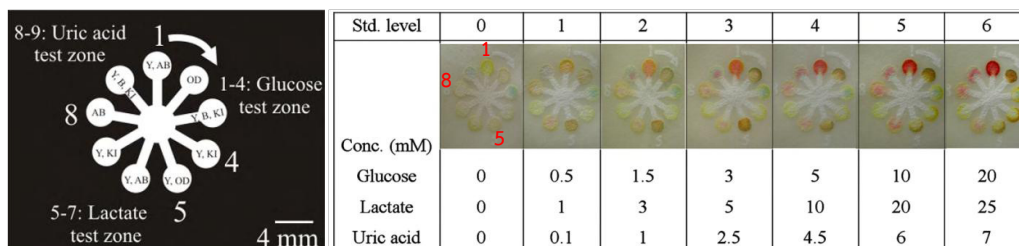
การผลิตชุดตรวจวัดด้วยการสร้างอิเล็กโทรดบนกระดาษ เพื่อวัดสาร 3 ชนิดพร้อมกัน ให้มีเส้นทางการไหลของสารจากจุดตรงกลางสำหรับหยดสารตัวอย่างไปยังพื้นที่วงกลมแต่ละส่วน สำหรับวัดสารแต่ละชนิด คือ glucose, lactate และ uric acid บริเวณดังกล่าวอยู่บนพื้นที่กระดาษที่เรียกว่า ไฮโดรฟิลิก (กระดาษบริเวณสีขาว แสดงดังรูปที่ 12) โดยแต่ละพื้นที่วงกลมก็จะประกอบไปด้วย counter, working, และ reference electrode (CE, WE และ RE ตามลำดับ) นอกจากนี้พื้นที่วงกลมทั้งสามซึ่งถูกเคลือบไว้ด้วยเอนไซม์ glucose oxidase, lactase oxidase และ uricase ตามลำดับ ก็จะทำให้หน้าที่จับอย่างจำเพาะกับสับสเตรท หรือสารที่ต้องการตรวจวัดทั้ง 3 ชนิด ดังกล่าวข้างต้น การทำงานของเอนไซม์จะเกิดการผลิต H_2O_2 และสามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิคเคมีไฟฟ้า (Dungchai et al., 2009)



รูปที่ 12 การออกแบบเส้นทางการไหลของสารและอิเล็กโทรดบนกระดาษเพื่อวัดสาร 3 ชนิดพร้อมกัน (Dungchai et al., 2009)

นอกจากนี้ทีมนักวิจัยดังกล่าวยังได้พัฒนา lab-on-a-paper เพื่อวัด glucose, lactate และ uric acid พร้อมกันในครั้งเดียว แต่เป็นการวิเคราะห์ผลด้วยตาเปล่าจากการสังเกตสีที่ปรากฏบนกระดาษ แทนการใช้เครื่องมือทางเคมีไฟฟ้า หลักการคือใช้ระบบการทำงานของเอนไซม์ดังเช่นงานวิจัยก่อนหน้านี้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้ก็คือ H_2O_2 แต่แทนที่จะวัดด้วยเทคนิคเคมีไฟฟ้า ก็เป็นการประเมินสีที่เกิดขึ้นจาก H_2O_2 ไปทำหน้าที่ออกซิไดซ์อินดิเคเตอร์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนสี แต่ละชุดตรวจวัดจะประกอบด้วย test zone 9 ส่วน (รูปที่ 13 ซ้าย) โดย 1-4, 5-7, 8-9 สำหรับวัด glucose, lactate และ uric acid ตามลำดับ และบริเวณดังกล่าวก็จะมี การเคลือบด้วยเอนไซม์สำหรับสับสเตรทแต่ละชนิด

เหตุผลที่การตรวจวัดหนึ่งสารต้องมี test zone หลายตำแหน่ง เนื่องจากการใช้อินดิเคเตอร์ที่แตกต่างกัน เพื่อให้การสังเกตความแตกต่างของระดับสีได้ชัดเจนมากขึ้น จากรูปที่ 13 (ขวา) จะเห็นว่าปริมาณสารที่มากขึ้น สีก็จะเข้มมากขึ้นด้วย ตัวอย่างเช่น zone 1 และ 2 สำหรับวัด glucose เหมือนกัน ในตอนแรกที่ยังไม่เติม glucose จะพบสีเหลืองของอินดิเคเตอร์ Y ใน zone 1 และไม่มีสีของอินดิเคเตอร์ OD สำหรับ zone 2 เมื่อเติม glucose zone 1 จะเปลี่ยนเป็นสีแดงจากอินดิเคเตอร์ของ AB และจะเข้ม มากหากมีปริมาณ glucose สูง และ zone 2 จากไม่มีสี ก็จะเปลี่ยนเป็นสีเขียว-น้ำตาล (Dungchai et al., 2010)



รูปที่ 13 ชุดตรวจวัดสาร 3 ชนิด (uric acid, glucose และ lactate) ในครั้งเดียวที่สามารถวิเคราะห์ผลจากระดับสี หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษในแถววงกลมสีขาวแสดงถึงการใช้อินดิเคเตอร์: AB OD KI เปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีแดง เขียว-น้ำตาล และ เหลือง-น้ำตาล ตามลำดับ; Y และ B จะเปลี่ยนจากสีเหลืองและสีดำเป็นไม่มีสีตามลำดับ (Dungchai et al., 2010)

9. สรุป

การตรวจวัดทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของตัวบ่งชี้ด้านชีวภาพนั้น แม้การศึกษาก่อนหน้านี้จะมีเทคนิคที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยความไวสูง แม่นยำ ตัวอย่างเช่น เทคนิค GC, LC, HPLC, ELISA เป็นต้น อย่างไรก็ตามเทคนิคเหล่านี้มีข้อเสีย คือ ใช้ระยะเวลานานกว่าจะทราบผล มีขั้นตอนยุ่งยาก เครื่องมือวิเคราะห์ผลมีราคาแพง และมีขนาดใหญ่ ทั้งนี้ยังมีชุดทดสอบอย่างง่ายที่รู้จักกันในรูปผลิตภัณฑ์ชุดตรวจการตั้งครรภ์ ตรวจสารเสพติด ซึ่งวิเคราะห์ผลได้อย่างรวดเร็ว วิธีการง่าย ไม่จำเป็นต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการตรวจวัด คุณสมบัติที่โดดเด่นนี้เอง ทำให้นักวิจัยพยายามที่จะนำข้อดีดังกล่าวมาพัฒนาชุดทดสอบร่วมกับการประดิษฐ์เครื่องอ่าน ให้สามารถวิเคราะห์ผลเชิงปริมาณได้แม้สารในระดับที่ต่ำมาก ๆ ก็ตาม นอกจากนี้ยังได้มีการพัฒนาเซนเซอร์ตรวจวัดด้านเคมีไฟฟ้า เทคโนโลยีโทรศัพท์มือถือ การสร้างห้องปฏิบัติการบนชิปและกระดาษ โดยงานวิจัยด้านไบโอเซนเซอร์ได้รับความสนใจจากนักวิจัยและนักประดิษฐ์เป็นอย่างมากในช่วง 4-5 ปีมานี้ เป็นเทคนิคที่ตรวจวัดได้รวดเร็ว ความไวสูง ใช้สารเคมีปริมาณน้อย และที่สำคัญเครื่องมือมีขนาดเล็ก พกพาออกสู่ภาคสนามได้ ซึ่งถือว่าเป็นประโยชน์ต่อสังคมอย่างยิ่งในแง่การควบคุม ป้องกัน วิถีชีวิตการเป็นอยู่ เช่น การขยายตัวของโรคระบาด โรคภัยแรง การดูแลสุขภาพของประชาชน เป็นต้น การศึกษาวิจัยระยะยาวในอนาคต จะทำให้ประชาชนสามารถเข้าถึงวิทยาการด้านการแพทย์มากขึ้น หน่วยงานวิจัยและสาธารณสุขมีศักยภาพในการประเมินสุขภาพและความเป็นอยู่ของประชาชนได้อย่างแท้จริง

10. เอกสารอ้างอิง

- โสภณ กลิ่นจันทร์. (2544). ไบโอเซนเซอร์กับการประยุกต์ใช้. วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 11(4): 62-64.
- อดิสร เตือนตรานนท์. (2554). Lab on a Paper. นิตยสาร INNOMag (บทความ I-Worldwide). 38(217): 42-44.
- Bhatta, D., Michel, A.A., Villalba, M.M., Emmerson, G.D., Sparrow, I.J.G., Perkins, E.A., McDonnell, M.B., Ely, R.W. and Cartwright, G.A. (2011). Optical microchip array biosensor for multiplexed detection of bio-hazardous agents. *Biosensors and Bioelectronics* 30(1): 78-86.
- Chartarrayawadee, W., Moulton, S.E., Li, D., Too, C.O. and Wallace, G.G. (2012). Novel composite graphene/platinum electro-catalytic electrodes prepared by electrophoretic deposition from colloidal solutions. *Electrochimica Acta* 60: 213-223.
- Chuang, L., Hwang, J.Y., Chang, H.C., Chang, F.M. and Jong, S.B. (2004). Rapid and simple quantitative measurement of alpha-fetoprotein by combining immunochromatographic strip test and artificial neural network image analysis system. *Clinica Chimica Acta* 348(1-2): 87-93.
- Dai, Z., Chen, J., Yan, F. and Ju, H. (2005). Electrochemical sensor for immunoassay of carcinoembryonic antigen based on thionine monolayer modified gold electrode. *Cancer Detection and Prevention* 29(3): 233-240.
- Deng, S., Lei, J., Cheng, L., Zhang, Y. and Ju, H. (2011). Amplified electrochemiluminescence of quantum dots by electrochemically reduced graphene oxide for nanobiosensing of acetylcholine. *Biosensors and Bioelectronics* 26(11): 4552-4558.

- Dungchai, W., Chailapakul, O. and Henry, C.S. (2009). Electrochemical Detection for Paper-Based Microfluidics. *Analytical Chemistry* 81(14): 5821–5826.
- Dungchai, W., Chailapakul, O. and Henry, C.S. (2010). Use of multiple colorimetric indicators for paper-based microfluidic devices. *Analytica Chimica Acta* 674(2): 227–233.
- Geim, A.K. (2009). Graphene: status and prospects. *Science* 324(5934): 1530–1534.
- Geim, A.K. and Novoselov, K.S. (2007). The rise of graphene. *Nature Materials* 6(3): 183–191.
- Guo, Z., Hao, T., Duan, J., Wang, S. and Wei, D. (2012). Electrochemiluminescence immunosensor based on graphene-CdS quantum dots-agarose composite for the ultrasensitive detection of alpha fetoprotein. *Talanta* 89: 27–32.
- Huang, D., Peng, X., Su, L., Wang, D., Khuri, F.R., Shin, D.M. and Chen, Z. (2010). Comparison and optimization of multiplexed quantum dot-based immunohistofluorescence. *Nano Research* 3(1): 61–68.
- Kim, S. and Park, J.K. (2004). Development of a test strip reader for a lateral flow membrane-based immunochromatographic assay. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 9(2): 127–131.
- Li, Z., Wang, Y., Wang, J., Tang, Z., Pounds, J.G. and Lin, Y. (2010). Rapid and sensitive detection of protein biomarker using a portable fluorescence biosensor based on quantum dots and a lateral flow test strip. *Analytical chemistry* 82(16): 7008–7014.
- Nian, H., Wang, J., Wu, H., Lo, J.G., Chiu, K.H., Pounds, J.G. and Lin, Y. (2011). Electrochemical immunoassay of cotinine in serum based on nanoparticle probe and immuno-chromatographic strip. *Analytica Chimica Acta* 713: 50–55.
- Rattanarat, P., Dungchai, W., Siangproh, W., Chailapakul, O. and Henry, C.S. (2012). Sodium dodecyl sulfate-modified electrochemical paper-based analytical device for determination of dopamine levels in biological samples. *Analytica Chimica Acta* 744: 1–7.
- Voss, P. and Siems, W. (2006). Clinical oxidation parameters of aging. *Free Radical Research* 40(12): 1339–1349.
- Wang, S., Zhao, X., Khimji, I., Akbas, R., Qiu, W., Edwards, D., Cramer, D.W., Ye, B. and Demirci, U. (2011). Integration of cell phone imaging with microchip ELISA to detect ovarian cancer HE4 biomarker in urine at the point-of-care. *Lab on a chip* 11(20): 3411–3418.
- Wongwilai, W., Lapanantnoppakhun, S., Grudpan, S. and Grudpan, K. (2010). Webcam camera as a detector for a simple lab-on-chip time based approach. *Talanta* 81(3): 1137–1141.
- Xie, Y., Chen, A., Du, D. and Lin, Y. (2011). Graphene-based immunosensor for electrochemical quantification of phosphorylated p53 (S15). *Analytica Chimica Acta* 699(1): 44–48.
- Yang, Q., Gong, X., Song, T., Yang, J., Zhu, S., Li, Y., Cui, Y., Li, Y., Zhang, B. and Chang, J. (2011). Quantum dot-based immunochromatography test strip for rapid, quantitative and sensitive detection of alpha fetoprotein. *Biosensors and Bioelectronics* 30: 145–150.
- Zhang, X., Wu, Y., Tu, Y. and Liu, S. (2008). A reusable electrochemical immunosensor for carcinoembryonic antigen via molecular recognition of glycoprotein antibody by

- phenylboronic acid self-assembly layer on gold. *The Analyst* 133(4): 485–492.
- Zou, Z., Du, D., Wang, J., Smith, J.N., Timchalk, C., Li, Y. and Lin, Y. (2010). Quantum dot-based immunochromatographic fluorescent biosensor for biomonitoring trichloropyridinol, a biomarker of exposure to chlorpyrifos. *Analytical Chemistry* 82(12): 5125–5133.
- Zou, Z.X., Wang, J., Wang, H., Li, Y.Q. and Lin, Y. (2012). An integrated electrochemical device based on immunochromatographic test strip and enzyme labels for sensitive detection of disease-related biomarkers. *Talanta* 94: 58–64.

