

บทคัดย่อ

T'168056

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาวิธีประเมิน DNA Damage โดยอิเล็กโทรโฟรีซิส
ผู้วิจัย	ผศ.ดร. ไชยวัฒน์ ไชยสุต, ผศ.ดร. สุนีย์ จันทร์สกา, นายเฉลิมพงษ์ แสนจุ่ม สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
โครงการนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก	เงินรายได้คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประจำปีงบประมาณ 2548
ระยะเวลาทำวิจัย	12 เดือน
คำสำคัญ	การทำลายดีเอ็นเอ, อนุมูลอิสระ, อิเล็กโทรโฟรีซิส

การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีประเมิน DNA Damage โดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ศึกษาการเกิด DNA Damage ด้วยอนุมูลอิสระ ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ใช้ Plasmid DNA และอนุมูลอิสระ Hydroxyl ที่เกิดจากปฏิกิริยา Fenton โดยปกติแล้ว Plasmid DNA เมื่อทำอิเล็กโทรโฟรีซิสจะพบว่าแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจะมีปริมาณดีเอ็นเอที่อยู่ในรูป Supercoiled form (Form I) สูงและอยู่ในรูป Relaxed form (Form II) ปริมาณเล็กน้อย หลังจาก Incubated Plasmid DNA กับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และสารละลาย Fe (II) หรือ Fe (III) ในความเข้มข้นที่เหมาะสม จะเกิดการสร้างอนุมูลอิสระ Hydroxyl เมื่ออนุมูลอิสระ Hydroxyl เข้าทำลายดีเอ็นเอแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสจะมีปริมาณแถบดีเอ็นเอที่อยู่ในรูป Supercoiled form (Form I) ลดลงและมีการเพิ่มขึ้นของดีเอ็นเอในรูป Relaxed form (Form II) และ Linear form (Form III)

จากการศึกษาวิจัยพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการประเมิน DNA Damage โดยอิเล็กโทรโฟรีซิสคือ ความเข้มข้นของ Plasmid DNA 50 ng/ μ l, ความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 25 mM, ความเข้มข้นของสารละลาย Fe (II) 8 μ M, ความเข้มข้นของสารละลาย Fe (III) 20 μ M ภายใต้สภาวะการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสโดยใช้ความเข้มข้นของเจล 1 %, ความต่างศักย์ไฟฟ้า 80 โวลต์และใช้เวลาในการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส 100 นาที

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้ข้อมูลสภาวะการเกิดการทำลายดีเอ็นเอโดยอนุมูลอิสระ Hydroxyl ซึ่งพร้อมที่จะใช้ประเมินฤทธิ์ป้องกันการทำลายดีเอ็นเอโดยอนุมูลอิสระ Hydroxyl โดยสามารถใช้ตัวอย่างที่เป็นพืชสมุนไพร ยาและอาหารเพื่อศึกษาฤทธิ์ป้องกันการทำลายดีเอ็นเอของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวต่อไป

Abstract

T 168056

Research title Development of DNA Damage Evaluation by Electrophoresis
Researchers Assist. Prof. Chaiyavat chaiyasut, Assist. Prof. Sunee Chansakaew,
Chalermpong Sanjoom
Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Chiang Mai
University

This research was financially supported by

Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University
Fiscal year 2005

Research duration 12 months

Key words DNA Damage, Electrophoresis, Free Radicals

The purpose of this study was to develop DNA damage evaluation by Fenton reaction on plasmid DNA using agarose gel electrophoresis. The control Plasmid DNA contains mostly supercoiled form (form I) and only small amount of the relaxed form (form II). The Plasmid DNA is damaged by hydroxyl radical (OH°) generated from the Fenton reaction with hydrogenperoxide (H_2O_2) and Fe (II) or Fe (III). This DNA damage is characterized by the decrease of supercoiled DNA (Form I) or by the increase of Relaxed DNA (form II) or linear DNA form (form III) after hydroxyl radicals attack. The DNA damage does not occur when 8 μM Fe (II) or 20 μM Fe (III) or 25 mM H_2O_2 is added separately into the plasmid DNA solution.

In this study, the suitable condition for DNA Damage using agarose gel electrophoresis was 50 ng/ μl Plasmid DNA, 25 mM Hydrogenperoxide, 8 μM Fe (II), 20 μM Fe (III), 1% agarose gel in Tris-acetate buffer and electrophoresis was performed at 100 V for 100 minutes.

This study show the condition that DNA can be damaged by hydroxyl radical. It will then be able to used as an evaluation tool for the protective effect of medicinal plants, drugs and foods.