บทคัดย่อ

ในการตรวจสอบคุณสมบัติของอิเล็กโทรดสองชนิดคือ ชนิดที่เป็น glassy carbon electrode (GCE) และชนิด platinum electrode (PTE) โดยวิธีการมาตรฐานทางเคมีไฟฟ้าทั่วไปคือ วิธี cyclic voltammetry (CV) ในระบบอิเล็กโตรไลท์มาตรฐาน $K_3Fe(CN)_6$ ที่ pH 7.0 เพื่อการตรวจสอบการแลกเปลี่ยนประจุของ ferri-ferro ion พบว่าอิเล็กโทรดทั้งสองชนิดมีความสามารถในการตรวจวัดสัญญาณไฟฟ้าได้ดีทัดเทียมกัน แม้ว่าอาจมีรูปแบบของกราฟ CV ต่างกันออกไป เมื่อทำการดัดแปลงขั้วอิเล็กโทรดโดยใช้สารที่เป็นโพลิเมอร์ธรรมชาติไคโตซาน (chitosan-modified electrode) ทั้งที่เป็นชนิด 85% DD และ 95% DD และตรวจวัดด้วยวิธี cyclic voltammetry (CV) และวิธี differential pulse votammetry (DPV) ก็พบว่าอิเล็กโทรดดัดแปลงดังกล่าวยังคงความสามารถในการนำไฟฟ้าที่สามารถตรวจวัดได้ในรูปแบบเฉพาะตัวของกราฟ CV และ DPV ของchitosan-modified GCE และ chitosan-modified PTE นอกจากนี้ผลการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม และการตรวจวัดสัญญาณชีวภาพของดีเอ็นเอทางเคมีไฟฟ้าแบบ CV กับ DPV บ่งชี้ว่าอิเล็กโทรดที่ดัดแปลงด้วยสารไคโตซานเหล่านี้ ยังมีความสามารถในการตรึงดีเอ็นเอ SCWL-DNA ได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีเสถียรภาพสูง สำหรับผลการศึกษาพฤติกรรมของดีเอ็นเอ SCWL-DNA ที่ตรึงอยู่บน chitosan-modified GCE ด้วยการติดฉลากสาร methylene blue (MB) ซึ่งใช้เป็นสาร DNA intercalator และดัชนีการตอบสนองอย่างจำเพาะเจาะจงของดีเอ็นเอ ในระบบ supporting electrolyte ที่เป็น 20 mM tris buffer saline (TBS) pH 7.0 แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้ระบบการติดฉลากนี้สำหรับการตรวจวัดดีเอ็นเอในเชิงปริมาณได้ และจากการทดสอบกับ SCWL-DNA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ก็พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างเป็นสัดส่วนกันระหว่างความเข้มข้นของดีเอ็นเอ กับระดับของกระแสไฟฟ้าที่วัดได้ ณ ศักย์ไฟฟ้าที่เป็นตำแหน่งจำเพาะระหว่างปฏิกิริยาของดีเอ็นเอกับสาร MB คือ ณ ศักย์ไฟฟ้าที่ -0.25 V ในที่นี้จึงทำให้ได้ค่า EC_{50} ของ SCWL-DNA ที่ตรึงอยู่บนพื้นผิว chitosan-modified GCE ขนาดรัศมี 2 mm ได้เท่ากับ 1.38344 E-21 ng และยังสามารถเทียบหาหาความเข้มข้นของดีเอ็นเอ ได้จากค่าความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรงระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายดีเอ็นเอเมื่อเทียบเป็นค่า log ความเข้มข้น กับค่ากระแส peak ของ DPV จากสมการความสัมพันธ์ Y = -0.95669+0.5286X ด้วยค่า R = 0.9916 ดังนั้นด้วยประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์ในเชิงปริมาณเช่นนี้ จึงเป็นส่วนที่สำคัญสำหรับการกำหนดและตรวจสอบเป้าหมาย ทำให้สามารถระบุได้ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณในคราวเดียวกันได้อย่างชัดเจน เพื่อประโยชน์ในการสร้างดีเอ็นเอเซนเซอร์ที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้นในลำดับต่อไป

Abstract

Electrochemical properties of the two standard electrodes, glassy carbon electrode (GCE) and platinum electrode (PTE) were examined using cyclic votammetry (CV) technique. Measurement of a ferri-ferro ion exchange under $K_3Fe(CN)_6$ at pH 7.0 with nitrogen atmosphere has indicated similar electrical conductivity capable for electrochemical performa nce. Although some differences in cyclic voltammogram were appeared. A high response to electrical measurement by CV and differential pulse voltammetry (DPV) has been steadily verified even after modification of each glassy carbon and platinum electrode surface with either 85% or 95% DD chitosan natural biopolymer with their signify patterns. Successful immobilization of sugarcane white leaf plant DNA (SCWL-DNA) onto the chitosan-modified electrode was illustrated by an atomic force microscopical (AFM) observation. An efficiency and a stability of SCWL-DNA immobilization on these modified electrodes were confirmed by CV and DPV investigation through the standard $K_3Fe(CN)_6^{3-}$/ $K_3Fe(CN)_6^{4-}$ exchange system. Electrochemical behavior of the immobilized SCWL-DNA on GCE was further traced out using methylene blue (MB) as the DNA intercalator and guanine indicator. Both CV and DPV responses in tris buffer saline (TBS) pH 7.0 supporting electrolyte have suggested the quantificable possibility of this DNA on the GCE surface. It has been shown that the specific DNA-MB interaction peak current (Ip) at -0.25V potential (E) was increased following the increase of SCWL-DNA concentration. The results were more appreciated with DPV according to the more obvious peaks. The amount of SCWL on the 2 mm radius surface chitosan-modified GCE then could be calculated in term of an EC_{50} as 1.38344 E-21 ng and the correlative regression between peak current obtained and log of DNA concentration could be formulated as the equation of Y = -0.95669+0.5286X with the R value of 0.9916 concerning the DPV results. Thus, these electrochemical studies suggested the system could be applied for qualification as well as quantification of the target DNA which are necessary steps of the require DNA sensor fabrication.