

ชื่อโครงการ : การออกแบบและสร้างเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบจับปล้นด้วยเทอร์มออิเล็กทรอนิกส์สำหรับสเปกโตรโฟโตมิเตอร์เพื่อใช้ในการศึกษาอุณหภูมิเสถียรภาพและจลนศาสตร์ของสารชีวโมเลกุลประเภทโปรตีนและสารพันธุกรรม

คณะผู้วิจัย

ผศ.ดร. ลลิตา แซงค์

หัวหน้าโครงการวิจัย

รศ.ดร. สายสุนีย์ เหล็กวเรืองรัตน์

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

ผศ. ประเสริฐ ประเสริฐกิจวัฒนา

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

หน่วยงานที่สังกัด : ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ได้ทำการออกแบบและสร้างเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบจับปล้นด้วยเทอร์มออิเล็กทรอนิกส์สำหรับสเปกโตรโฟโตมิเตอร์เพื่อใช้ในการศึกษาอุณหภูมิเสถียรภาพและจลนศาสตร์ของสารชีวโมเลกุลประเภทโปรตีนและสารพันธุกรรม โดยใช้ใช้ระบบควบคุมแบบดิจิทัลชาญฉลาด (intelligent control system) โดยอาศัยพื้นฐานของตรรกศาสตร์คลุมเครือและการมอดูเลตด้วยความกว้างของช่วงคลื่น และใช้สมองกลฝังตัว ATMEGA8 ของบริษัท ATMEL Corp. ที่สามารถโปรแกรมได้ง่ายด้วยภาษาเบสิก รองรับการเขียนโปรแกรมได้ถึง 8 กิโลไบต์ มีหน่วยความจำถาวรแบบ electrical programmable read only memory ได้ถึง 512 ไบต์

ตัวรับรู้อุณหภูมิที่ใช้ในโครงการนี้ เลือกใช้ตัวรับรู้อุณหภูมิของบริษัท ดาลลัสท์ รุ่น DS1820 ซึ่งเป็นตัวรับรู้อุณหภูมิที่มีความละเอียด 0.5 องศาเซลเซียส มีความไวต่ออุณหภูมิ 0.1 วินาที และสามารถเชื่อมสัญญาณโดยใช้ I/O เพียงช่องเดียว (one-wire interface; 1-wire) ใช้ไฟเลี้ยงน้อยมาก (ระดับนาโนวัตต์) และสามารถเรียงต่อกันเป็นอนุกรมได้ (series master-slave interface) สามารถควบคุมได้จากสมองกลโดยตรง โดยใช้ซอฟต์แวร์ที่พัฒนาขึ้นด้วยไมโครซอฟต์แวร์แบบสิก พบว่า การทดลองด้วยวิธีดั้งเดิมโดยการเพิ่มอุณหภูมิของอ่างควบคุมอุณหภูมิ ทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์สูงขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นอุณหภูมิที่เอนไซม์มีค่าแอกติวิตีในการทำงานสูงที่สุด (optimal temperature) ซึ่งไม่แตกต่างจากผลการทดลองโดยใช้เครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบจับปล้น การใช้เครื่องที่สร้างขึ้นมีความสะดวกและรวดเร็วสำหรับการทดลองมากกว่าการใช้อ่างควบคุมอุณหภูมิ เนื่องจากเครื่องที่สร้างขึ้น สามารถป้อนคำสั่งเพื่อให้ควบคุมอุณหภูมิได้โดยอัตโนมัติ ทำให้ไม่ต้องเสียเวลาในการในการบ่ม (incubate) ส่งผลให้ค่าแอกติวิตีการทำงานของเอนไซม์ที่ได้มีความเที่ยงตรงมากขึ้น เนื่องจากเครื่องที่สร้างขึ้นมีปัจจัยภายนอกที่รบกวนการทดลองน้อยกว่าการใช้อ่างควบคุมอุณหภูมิและไม่เสียเวลาในการเคลื่อนย้าย นอกจากนี้การใช้เครื่องที่สร้างขึ้นในการหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แล้ว นักวิจัยยัง

ได้รับความความสะดวก รวดเร็ว อีกทั้งสามารถช่วยลดปริมาณสารเคมีและสารตัวอย่างที่ใช้สำหรับการทดลอง ทำให้เป็นการลดต้นทุนในการทำวิจัย ซึ่งถือเป็นข้อดีของเครื่องมือที่สร้างขึ้นในการนำมาประยุกต์ทาง ด้านชีวภาพ และด้านอื่นๆ ต่อไป

สำหรับการทดลองกับตัวอย่างสารพันธุกรรม พบว่า การใช้เครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบฉับพลันด้วยเทอร์มออิเล็กทรอนิกส์สำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เพื่อทำการควบคุมอุณหภูมิแทนอ่างควบคุมอุณหภูมิโดยนำ DNA ที่สกัดได้จากหอมหัวใหญ่ไปวัดการเสถียรภาพของ DNA ที่ความยาวคลื่น A_{260} ซึ่งมีการควบคุมอุณหภูมิในการทำงานจากเครื่องมือที่สร้างขึ้น โดยการป้อนคำสั่งให้มีการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิโดยอัตโนมัติในเวลาที่กำหนด จากอุณหภูมิเริ่มต้นจนถึงอุณหภูมิสุดท้ายที่ทำให้ DNA เสถียรภาพ โดยไม่ต้องมีการคั่ง cuvette เข้าออก หรือเตรียม water bath ที่อุณหภูมิต่างๆ และนำมาหาค่าอุณหภูมิหลอมตัวที่ทำให้ปริมาณเกลียวคู่ครึ่งหนึ่งของ DNA เปลี่ยนเป็นเส้นเดี่ยว พบว่ามีค่าเท่ากับ 80°C จากการทดลองจะเห็นได้ว่าแหล่งกำเนิดความร้อนที่มีผลในการทำลายสภาพธรรมชาติของ DNA จากการใช้เครื่องมือที่สร้างขึ้นพบว่ามีความสะดวกและรวดเร็วสำหรับการทดลองมากกว่าการใช้อ่างควบคุมอุณหภูมิ เนื่องจากเครื่องมือที่สร้างขึ้น สามารถป้อนคำสั่งเพื่อควบคุมอุณหภูมิได้โดยอัตโนมัติ ทำให้ไม่ต้องเสียเวลาในการในการบ่ม (incubate) DNA ส่งผลให้ค่าอุณหภูมิหลอมตัวของ DNA ที่ได้มีความเที่ยงตรงมากกว่า เนื่องจากเครื่องมือที่สร้างขึ้นมีปัจจัยภายนอกที่รบกวนการทดลองน้อยกว่าการใช้ water bath นอกจากการใช้เครื่องมือที่สร้างขึ้น เพื่อควบคุมอุณหภูมิในการทำ DNA เสถียรภาพธรรมชาติแล้ว จากการทดลองยังพบว่า ณ อุณหภูมิสูงสุดที่ 90°C หลังจากที่ DNA มีการเสถียรภาพธรรมชาตินั้น เมื่อลดอุณหภูมิลง สามารถจะทำให้สาย DNA กลับมาจับกันได้อีก (renature) โดยเครื่องมือที่สร้างขึ้นสามารถที่จะตรวจวัดอุณหภูมิที่ลดลง ตลอดจนค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ ซึ่งพบว่าถ้าทำให้อุณหภูมิเย็นลงอย่างรวดเร็ว (rapid cooling) ทำให้สายของ DNA จับกันอย่างรวดเร็วได้ แต่จะจับกันบางส่วนและมักจับแบบสุ่มโดยไม่ได้จับกันตลอดทั้งสายและได้เส้นกราฟที่ไม่ทับกันดังแสดงในผลการทดลอง แต่ถ้าทำให้อุณหภูมิลดลงอย่างช้าๆ (slow cooling) จะทำให้คู่สมของเบสสามารถหากันได้พบ และได้กราฟที่เกือบจะซ้อนทับกันพอดี ทั้งนี้เครื่องมือที่สร้างขึ้นสามารถกำหนดอุณหภูมิและช่วงเวลาที่ลดลงของอุณหภูมิที่ต้องการได้