T162655

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการออกแบบและสร้างเครื่องควบคุมอุณหภูมิของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสที่สามารถสังเคราะห์สาย DNA เพิ่มขึ้นในหลอดทดลองได้โดยไม่จำกัดจำนวน การสังเคราะห์ DNA จะเกิดขึ้นเมื่อทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิหมุนเวียนอยู่ ณ อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ ของ3 ขั้นตอน Denaturation, Annealing and Extension โดยใช้ตัวไมโครคอนโทรลเลอร์ ประมวลผลในการควบคุมอุณหภูมิ ผลที่จะได้คือเครื่องควบคุมอุณหภูมิของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสสามารถสังเคราะห์สาย DNA เพิ่มขึ้นในหลอดทดลองได้ ซึ่งเป็นประโยชน์ในการศึกษาวิจัย (Research Application) เช่น DNA Sequencing Molecular Cloning Dnase I Footprinting Genome Mapping Evolutionary Analysis ฯลฯ ประโยชน์ทางการแพทย์และนิติเวชวิทยา ใช้ในการชันสูตรโรค และพิสูจน์หลักฐานในการดำเนินคดี ได้แก่ HLA Typing โรคติดเชื้อ โรคผิดปกติทางพันธุ์กรรม โรคมะเร็ง ฯลฯ และ GMO'S (Gentically Modified Organisms) คือ สิ่งมีชีวิตที่ได้รับการปรับแต่งยีนหรือหน่วยพันธุกรรม

จากการสร้างเครื่องพบว่าสามารถเพิ่มจำนวน DNA ได้ในหลอดทดลองที่มีสารตัวอย่าง 25 μl แต่ไม่ดีเท่าที่ควร โดยตั้งค่าอุณหภูมิและเวลา ค่าแรกที่ 95°C 600 วินาที คือ การแยก DNA สายคู่เป็นสายเดี่ยว และเข้าสู่ขบวนการวนรอบอุณหภูมิ (Thermal Cycler) 96°C 120 second, 59°C 60 second, 69°C 60 second ตามลำดับ ทั้งหมด 35 รอบอุณหภูมิ และเข้าสู่ขั้นตอนค่าที่ตั้งไว้ 72 °C เป็นขั้นตอนที่ทำให้การจับคู่ของสาย DNA ที่ยังไม่สมบูรณ์ สมบูรณ์มากขึ้น ขั้นสุดท้ายเป็น 4 °C เพื่อเป็นการเก็บรักษาสารตัวอย่าง

การออกแบบนี้เป็นแนวทางแก่ผู้อื่นที่สนใจพัฒนาและสร้างเครื่องมือแพทย์บางประเภทขึ้นโดยใช้หลักการของเครื่องต้นแบบที่ผลิตขึ้นได้อีกต่อไปในอนาคต อันจะนำมาซึ่งการผลิตเครื่องมือแพทย์ขึ้นใช้เองภายในประเทศประกอบกับงบประมาณการจัดซื้อถูกลดลง เพื่อทดแทนการนำเข้าเครื่องมือแพทย์ราคาแพงจากต่างประเทศ

(วิทยานิพนธ์มีจำนวนทั้งสิ้น 149 หน้า)

_____ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

Abstract **TE162655**

This research aims to investigate and to design the control thermal instrument of polymerase chain reaction used for unlimitedly duplicating the quantity of DNA synthesis administered in laboratory tubes. The DNA synthesis was produced when the changes of temperature occurred. There were 3 stages of temperature changing as follows: denaturation, annealing and extension, respectively. The microcontroller was mainly used for evaluating the deviated temperature control which occurred during the polymerase chain reaction of DNA synthesis in laboratory tubes. The result obtained was very important and useful in many research applications, for example, DNA sequencing, molecular cloning, Dnase I footprinting, genome mapping, evolutionary analysis, medical diagnosis which is used in disease analysis such as HLA typing, infected diseases, cancers, the abnormal genetic diseases, and in medical jurisprudence which provides the evidence proving in a legal action. In addition, polymerase chain reaction is also modified for GMO'S (Gentically Modified Organisms) technique in improving genetic information of various organisms.

The reaction was started when the sample (25 microliters) of DNA from human was placed in the polymerase chain reaction thermal cycler. In first stage, the temperature was set at 95°C for 600 seconds to separate the DNA from double helix into single strand. Then go to the second stage (thermal cycle), the thermal cycle profiles were set the temperature at 96°C for DNA denaturation for 120 seconds, then shifted to 59°C for annealing for 60 seconds and 69°C for extention for 60 seconds, respectively, until completing 35 cycles The third stage, the temperature was set at

72°C for 420 seconds, which allowed the completion of DNA synthesis. And the final stage, the temperature was set at 4°C for maintenance the sample until use.

This design was very useful and practical for the basic study in department of Applied physics and Medical instrumentation and for the interested person to improve and develope this equipment in the upcoming future. It could also be used to support the production of the medical instruments in local with low price and reduce the import of the medical instruments from foreign countries.

(Total 149 pages)

Chairperson