

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองนี้เป็นการศึกษาผลของการระดมยิงพลาสมาต่อดีเอ็นเอ ซึ่งดีเอ็นเอที่ใช้คือ พลาสมิด pUC19 และชิ้นส่วนของ *LacZ* gene โดยก๊าซที่ใช้คือ ก๊าซไนโตรเจน จากการทดลองได้ศึกษาผลของพลาสมาต่อดีเอ็นเอ และบันทึกจำนวนโคโลนีทั้งหมด (ทั้งโคโลนีสีน้ำเงินและสีขาว) , ลักษณะทางฟีโนไทป์ , วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของลำดับเบส และผลของพลาสมา (ไนโตรเจนไอออน) ต่อชนิดของเบส

1. ผลของพลาสมาต่อพลาสมิด pUC19

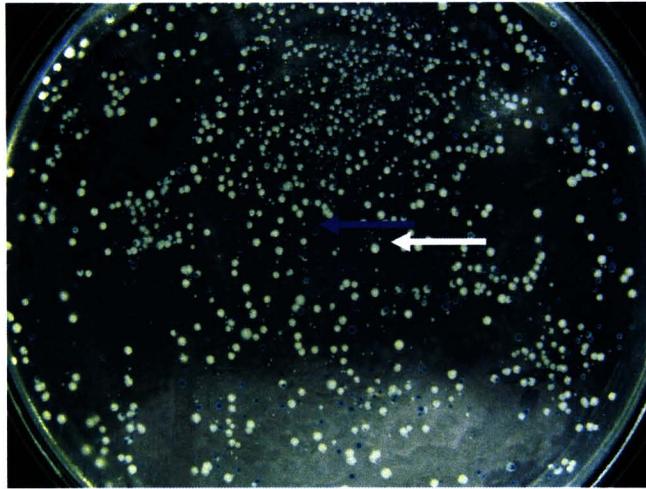
จากการนำพลาสมิด pUC19 ไปเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา โดยแสดงสถานะเงื่อนไขในตารางที่ 9 ซึ่งเป็นการกำหนด dosage และ bias ที่ใช้ในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์

ตาราง 9 แสดงสถานะในการเหนี่ยวนำพลาสมิด pUC19 ด้วยพลาสมา

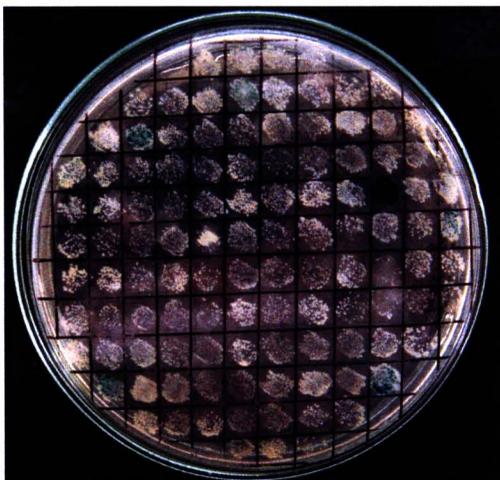
Dosage (ion / cm ²)	Bias (-kV)	Time (min)
1x10 ¹⁵	2.5	6.30
2x10 ¹⁵	2.5	19.08
2x10 ¹⁵	3.5	17.16
2x10 ¹⁵	5.0	26.14
4x10 ¹⁵	2.5	38.17

1.1 การคัดเลือกโคโลนีสีขาวจากการนำพลาสมิด pUC19 ไปเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา

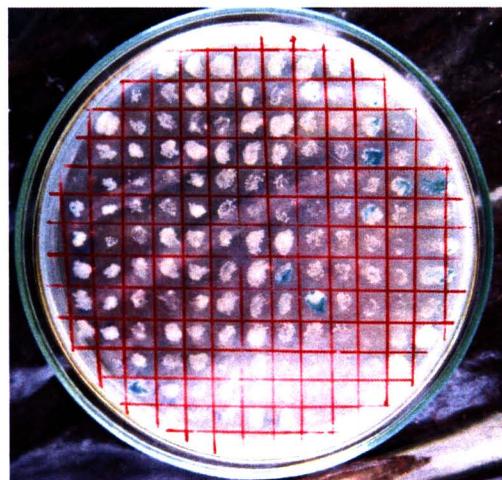
หลังจากการนำพลาสมิด pUC19 ที่ผ่านการเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา ส่งถ่ายเข้าสู่แบคทีเรีย *E. coli* (DH5 α) ซึ่งจากการสังเกตลักษณะทางฟีโนไทป์พบทั้งโคโลนีสีน้ำเงินและสีขาวกระจายอยู่บนเพลท ดังภาพ 8A และทำการเลือกโคโลนีสีขาวไป re-streak เป็นจำนวน 5 รุ่น เพื่อสังเกตความเสถียรของโคโลนีสีขาว และทำการบันทึกจำนวนโคโลนีทั้งหมด ดังตาราง 11 เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่าง dosage และ bias ต่อความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์



(A)



(B)



(C)

ภาพ 8 การคัดเลือกโคโลนีสีขาวจากการนำพลาสมิด pUC19 ไปเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา

(A) คือ ภาพการกระจายของโคโลนีสีน้ำเงินและสีขาวจากการส่งถ่ายพลาสมิด pUC19 ที่ผ่านการเหนี่ยวนำด้วยพลาสมาเข้าสู่แบคทีเรีย (บริเวณลูกศรสีขาวชี้คือ โคโลนีสีขาว และ บริเวณลูกศรสีน้ำเงินชี้คือ โคโลนีสีน้ำเงิน)

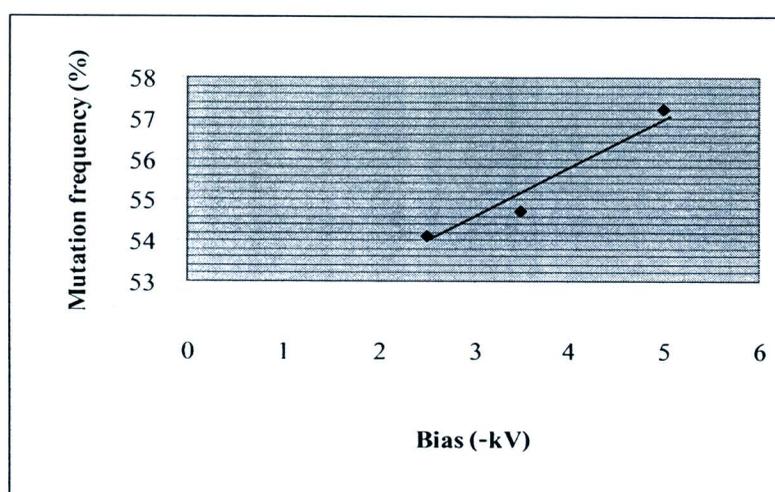
(B, C) คือ ภาพการคัดเลือกโคโลนีสีขาวมา re-streak เป็นจำนวน 5 รูน

1.2 ความสัมพันธ์ระหว่าง Dosage กับ Bias ต่อความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ที่ใช้พลาสมิด pUC19 เหนี่ยวนำด้วยพลาสมา

จากการบันทึกจำนวนโคโลนีทั้งหมด (ทั้งโคโลนีสีน้ำเงินและสีขาว) เพื่อใช้ในการหาความสัมพันธ์ระหว่าง dosage กับ bias ต่อความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ (mutation frequency) โดยตาราง 10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง dosage กับ bias ซึ่งเป็นสภาวะที่ใช้ในการเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา โดยใช้พลาสมิด pUC19 พบว่าในเงื่อนไขที่ dosage : 2×10^{15} ions/cm² คงที่ และ bias 2.5 , 3.5 และ 5.0 kV สามารถทำให้ความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ (mutation frequency) นั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามสภาวะเงื่อนไขที่มีการเพิ่มของ bias (ภาพ 9)

ตาราง 10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง dosage กับ bias ต่อความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ในสภาวะเงื่อนไขที่มีการกำหนด dosage : 2×10^{15} ions/cm² คงที่ และ bias : 2.5 , 3.5 และ 5.0 kV

Dosage ions / cm ²	Bias (-kV)	Total No. of observed colonies	No. of white colonies (mutant)	Mutation frequency (%)
2×10^{15}	2.5	2896	1568	54.1
2×10^{15}	3.5	3023	1655	54.7
2×10^{15}	5.0	3222	1842	57.2

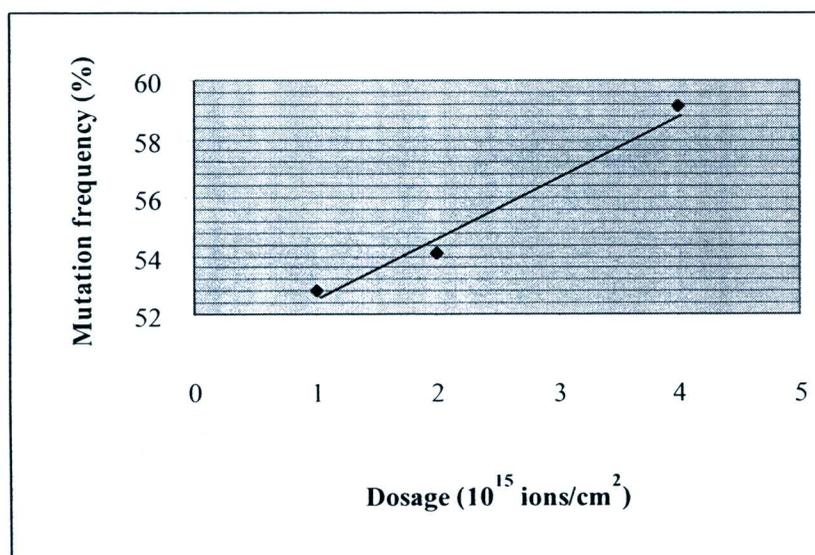


ภาพ 9 กราฟแสดงการเปรียบเทียบระหว่าง Dosage : 2×10^{15} ions / cm² (คงที่) กับ Bias 2.5 , 3.5 และ 5.0 kV

ส่วนในสถานะเงื่อนไขการใช้ dosage : 1×10^{15} , 2×10^{15} และ 4×10^{15} ions / cm^2 และ bias 2.5 kV (คงที่) ดังตาราง 11 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง dosage กับ bias พบว่าส่งผลต่อความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ (mutation frequency) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามสถานะเงื่อนไขที่มีการเพิ่มของ dosage (ภาพ 10) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับการเพิ่ม bias

ตาราง 11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Dosage กับ Bias ต่อความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ในสถานะเงื่อนไขที่มีการกำหนด dosage : 1×10^{15} , 2×10^{15} และ 4×10^{15} ions/ cm^2 และ bias : 2.5 kV (คงที่)

Dosage ions / cm^2	Bias (-kV)	Total No. of observed colonies	No. of white colonies (mutant)	Mutation frequency (%)
1×10^{15}	2.5	2249	1188	52.8
2×10^{15}	2.5	2896	1568	54.1
4×10^{15}	2.5	2681	1584	59.1



ภาพ 10 กราฟแสดงการเปรียบเทียบระหว่าง Dosage : 1×10^{15} , 2×10^{15} และ 4×10^{15} ions / cm^2 กับ Bias 2.5 kV (คงที่)

1.3 การเปรียบเทียบลำดับเบสของพลาสมิด pUC19 ที่ผ่านการเหนี่ยวนำด้วย

พลาสมา

หลังจากการคัดเลือกโคโลนีสีขาวพร้อมกับ subculture โคโลนีสีขาว 5 รุ่น และสกัด พลาสมิดที่ได้คัดเลือก เพื่อส่งไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ ณ บริษัท First base ที่ประเทศมาเลเซีย โดยส่งพลาสมิดไปหาลำดับเบสเป็นจำนวน 35 โคลน โดยได้ใช้สัญลักษณ์แทนแต่ละโคลนคือ P (P1-P35) และเมื่อได้ข้อมูลแล้วนำมาวิเคราะห์ 2 โคลน (P1 , P2)

โดยภาพที่ 11 เป็นการเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับ P1 พบว่าเมื่อเปรียบเทียบตำแหน่ง promoter (บริเวณขีดเส้นใต้) , ตำแหน่ง start codon จนถึงตำแหน่ง stop codon ซึ่งเป็นส่วนของ *LacZ* gene ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบส โดยไม่สอดคล้องกับลักษณะของฟีโนไทป์ที่ปรากฏขึ้นที่มีโคโลนีเป็นสีขาว ซึ่งอาจมีการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสในบริเวณอื่นของพลาสมิด pUC19 ทำให้ส่งผลต่อลักษณะของโคโลนีของแบคทีเรียเป็นสีขาว ส่วนโคลนอื่นๆ เมื่อมีการวิเคราะห์ลำดับเบสก็ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกัน ซึ่งอาจเกิดจากสาเหตุเดียวกัน

	Plac promoter -35	Plac promoter -10	
pUC19	CATTAGGCACCCCAGGC <u>TTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTG</u>		540
P1	CATTAGGCACCCCAGGC <u>TTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTG</u>		540

	Start codon →		
pUC19	AGCGGATAACAATTT CACACAGGAAACAGCTATG ACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGT		600
P1	AGCGGATAACAATTT CACACAGGAAACAGCTATG ACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGT		600

pUC19	ACCCGGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGGCATGCAAGCTTGGCACTGGCCGTCGTTTT		660
P1	ACCCGGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGGCATGCAAGCTTGGCACTGGCCGTCGTTTT		660

pUC19	ACAACGTCGTGACTGGGAAAACCC TGGCGTTACCCA ACTTAATCGCCTTGCAGCACATCC		720
P1	ACAACGTCGTGACTGGGAAAACCC TGGCGTTACCCA ACTTAATCGCCTTGCAGCACATCC		720

pUC19	CCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTT		780
P1	CCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTT		780

pUC19	GCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGG		840
P1	GCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGG		840

	Stop codon		
pUC19	TATTT CACACCGCATATGGT GCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGC ATAG		895
P1	TATTT CACACCGCATATGGT GCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGC ATAG		895

ภาพ 11 การเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับ P1

ภาพ 12 เป็นการเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับ P2 ในตำแหน่งของ promoter (บริเวณขีดเส้นใต้), ตำแหน่ง start codon จนถึงตำแหน่ง stop codon ซึ่งเป็นส่วนของ *LacZ* gene พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสในบริเวณของ *LacZ* gene ทั้งหมด 131 ตำแหน่ง โดยจะแสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสดังตาราง 12 ซึ่งเป็นการแสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของพลาสมิด pUC19 ที่ผ่านการเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสในบริเวณ *LacZ* gene ของโคลน P2 นี้ จะส่งผลต่อลักษณะทางฟีโนไทป์ที่เกิดขึ้นที่ทำให้โคโลนีของแบคทีเรียเป็นสีขาว

	Plac promoter -35	Plac promoter -10	
P2	<u>TTTACA</u> CTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCA		60
pUC19	<u>TTTACA</u> CTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCA		60

		→	
	Start codon		
P2	CACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTAG		120
pUC19	CACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTAG		120

P2	AGTCGACCTGCAGGCATGCAAGCTT-----CGCTGGTGCGTAACGCCAGCTCCA--		169
pUC19	AGTCGACCTGCAGGCATGCAAGCTTGGCACTGGCCGTCGTTTACAACGTCGTGACTGGG		180

P2	-----TCTGATTTTCTTCCATCAACGAGGCTTTGAGTGTATCCAGCAATTTGCGGATTAC		224
pUC19	AAAACCTGGCGTTACCCAACCTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGC		240
	*** ** *		
P2	CTCAATGTTATCAG--CTTCATCAAGGTCTTCATAAAACAGTCCGCCGACGGG-----		276
pUC19	GTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCG		300
	* *		
P2	-----CTGATA-----TTTCCCTTTAACCATACGTCCAG-----CATAT		310
pUC19	AATGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATAT		360

	Stop codon		
P2	GGTGCCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAG		348
pUC19	GGTGCCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAG		398

ภาพ 12 การเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับ P2

บริเวณที่ขีดเส้นใต้ คือ บริเวณโปรโมเตอร์ของ Plac promoter -35 และ Plac promoter -10

1.4 รูปแบบการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของพลาสมิด pUC19 ที่ผ่านการเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา

จากการวิเคราะห์ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบส ซึ่งพบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสแบบ Transition 28 % แบบ Transversion 34 % ในขณะที่ พบการเปลี่ยนแปลงแบบ Deletion คิดเป็น 38 % จึงสรุปได้ว่าใน P2 พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสแบบ Deletion มากที่สุด ดังตาราง 12

ตาราง 12 แสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของพลาสมิด pUC19 ที่ตำแหน่งของ *LacZ* gene ของโคลน P2

Mutational type	Number of occurrence	Frequency (%)
Transition	36	28
A → G	4	3
G → A	7	5
C → T	17	13
T → C	8	7
Transversion	45	34
A:G → C:T	21	16
C:T → A:G	24	18
Deletion	50	38
-A	12	9
-G	16	12
-C	13	10
-T	9	7
Total	131	100

1.5 ผลของไอออนพลาสติก (ไนโตรเจนไอออน) ต่อชนิดของเบสของ พลาสมิด pUC19 ที่ตำแหน่ง ของ *LacZ* gene

จากการวิเคราะห์ผลของไอออนพลาสติก (ไนโตรเจนไอออน) ที่ sensitivity ต่อเบสของ พลาสมิด pUC19 ของโคลน P2 ที่ตำแหน่งของ *LacZ* gene พบว่าเบสที่ sensitivity ต่อพลาสมิด (ไนโตรเจนไอออน) มากที่สุดคือ เบส Cytosine (C) โดยคิดเป็น 33 % ซึ่งมากกว่าเบส G > T > A ตามลำดับ ดังตาราง 13

ตาราง 13 แสดงผลของเบสที่ sensitivity ต่อพลาสมิด (ไนโตรเจนไอออน) ในโคลน P2

เบส (Base)	No. base change occurred	Radiosensitivity (%)
A	24	18
G	36	27
*C	43	33
T	28	22

หมายเหตุ : * คือ เบสที่ sensitivity ต่อไอออนของพลาสมิดมากที่สุด

2. ผลของพลาสมาต่อ *LacZ* gene

จากการนำ *LacZ* gene ไปเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา โดยแสดงสถานะเงื่อนไขในตารางที่ 14 ซึ่งเป็นการกำหนด dosage และ bias ที่ใช้ในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์

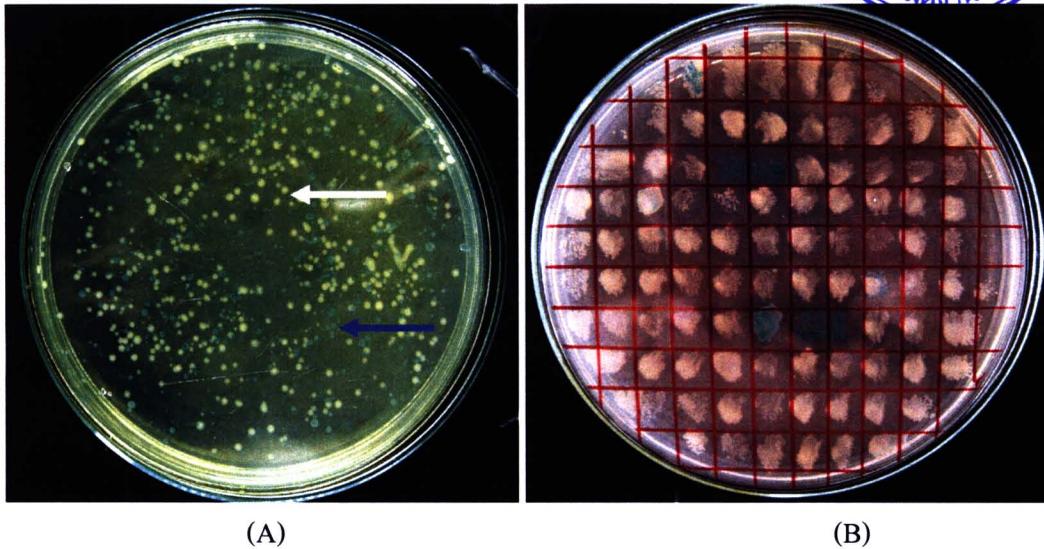
ตาราง 14 แสดงสถานะในการใช้ *LacZ* gene ที่เหนี่ยวนำด้วยพลาสมา

Dosage (ion / cm ²)	Bias (-kV)	Time (min)
5x10 ¹⁴	2.5	7.00
1x10 ¹⁵	2.5	14.08
2x10 ¹⁵	2.5	19.08
2x10 ¹⁵	3.5	21.28
2x10 ¹⁵	5.0	38.17

2.1 การคัดเลือกโคโลนีสีขาวจากการนำ *LacZ* gene ไปเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา

หลังจากนำ *LacZ* gene ที่ผ่านการเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา และนำมาเชื่อม (ligation) กับดีเอ็นเอพาหะ (vector) และส่งถ่ายเข้าสู่สายแบคทีเรีย *E. coli* (DH5 α) พบว่าสังเกตเห็นโคโลนีสีน้ำเงินและสีขาว และคัดเลือกโคโลนีสีขาว (ดังภาพ 13A และ 13B) ไป re-streak เป็นจำนวน 5 รุ่น เพื่อสังเกตความเสถียรของโคโลนีสีขาว และทำการบันทึกจำนวนโคโลนีทั้งหมด เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่าง dosage และ bias ต่อความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์

จากผลการเหนี่ยวนำ *LacZ* gene ด้วยพลาสมา พบว่าพลาสมามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสใน *LacZ* gene ซึ่งส่งผลกระทบต่อการแสดงออกในระดับฟีโนไทป์ ดังภาพ 13 ซึ่งจะสังเกตเห็นโคโลนีสีขาว (ลูกศรชี้สีขาว) กระจายกับโคโลนีสีน้ำเงิน (ลูกศรชี้สีน้ำเงิน) และคัดเลือกโคโลนีสีขาวพร้อมกับการ subculture



ภาพ 13 การคัดเลือกโคโลนีสีขาวจากการนำ *LacZ* gene ไปเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา

(A) คือ ภาพการกระจายของโคโลนีสีน้ำเงินและสีขาวจากการส่งถ่าย *LacZ* gene ที่ผ่านการเหนี่ยวนำด้วยพลาสมาเข้าสู่แบคทีเรีย (บริเวณลูกศรชี้สีขาวคือ โคโลนีสีขาว, บริเวณลูกศรชี้สีน้ำเงินคือโคโลนีสีน้ำเงิน)

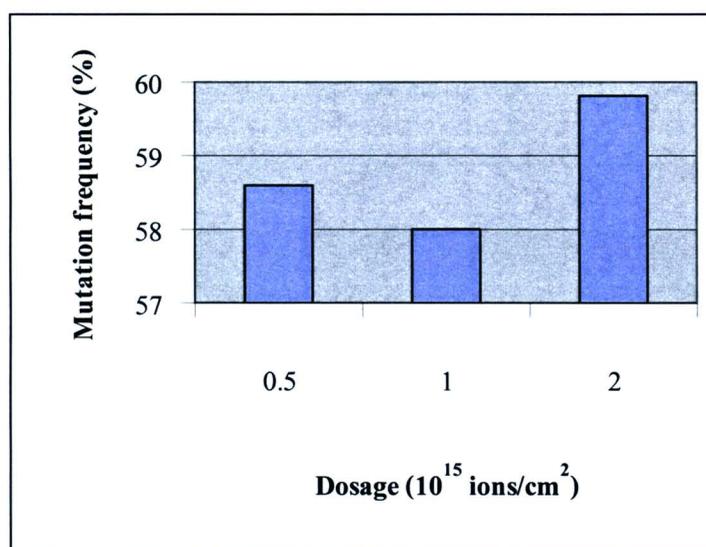
(B) คือ ภาพการคัดเลือกโคโลนีสีขาวมา re-streak เป็นจำนวน 5 รูน

2.2 ความสัมพันธ์ระหว่าง Dosage กับ Bias ต่อความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ที่ใช้ *LacZ* gene ไปการเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา

จากการบันทึกจำนวนโคโลนีทั้งหมด (ทั้งโคโลนีสีน้ำเงินและสีขาว) เพื่อใช้ในการหาความสัมพันธ์ระหว่าง dosage กับ bias ต่อความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ (mutation frequency) ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ดังตาราง 15 โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง dosage กับ bias ซึ่งเป็นสถานะที่ใช้ในการเหนี่ยวนำ *LacZ* gene ด้วยพลาสมา พบว่าในเงื่อนไขที่กำหนดการใช้ dosage : 5×10^{14} , 1×10^{15} และ 2×10^{15} ions / cm² และ bias 2.5 kV (คงที่) ซึ่งเป็นการเพิ่ม dosage จะเห็นว่าความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ที่ dosage : 5×10^{14} , 1×10^{15} และ : 2×10^{15} เท่ากับ 58.6 , 58.0 และ 60.0 % ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ในการทดลองที่ใช้ *LacZ* gene ไปเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา ในสถานะเงื่อนไขที่มีการเพิ่ม dosage ให้ผลไม่แตกต่างกัน ดังภาพ 14

ตาราง 15 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง dose กับ bias ต่อความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ใน
สภาวะเงื่อนไขที่มีการกำหนด dosage : 5×10^{14} , 1×10^{15} และ 2×10^{15} ions/cm² และ bias :
2.5 kV (คงที่)

Dosage ions / cm ²	Bias (-kV)	Total No. of observed colonies	No. of white colonies (mutant)	Mutation frequency (%)
5×10^{14}	2.5	1013	594	58.6
1×10^{15}	2.5	1128	653	58.0
2×10^{15}	2.5	1725	1031	59.8



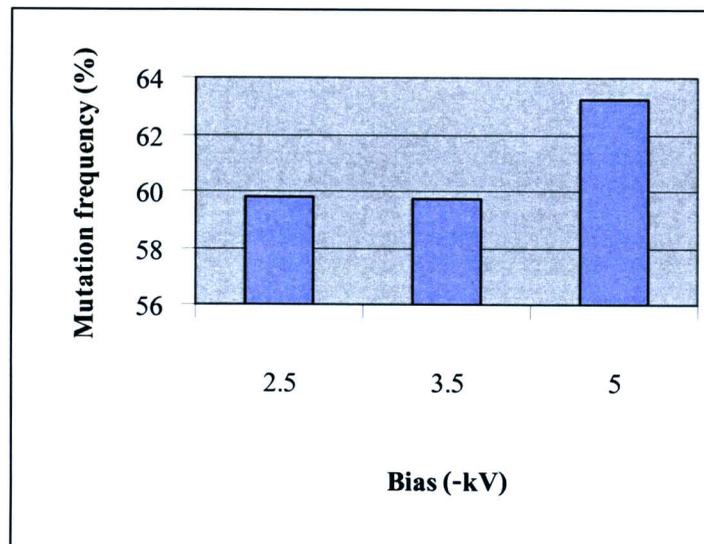
ภาพ 14 กราฟแสดงการเปรียบเทียบระหว่าง Dosage : 5×10^{14} , 1×10^{15} และ 2×10^{15} ions / cm²
กับ Bias 2.5 kV (คงที่)

ในขณะเงื่อนไขที่ใช้ dosage : 2×10^{15} ions / cm² คงที่ และใช้ Bias 2.5 , 3.5 และ 5.0kV ซึ่งเป็นการเพิ่ม bias จะเห็นว่าความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ที่ bias : 2.5 , 3.5 และ 5.0 kV เท่ากับ 59.8 , 59.7 และ 63.2 % ซึ่งจะเห็นว่าความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ในการทดลองที่

ใช้ *LacZ* gene ไปเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา ในสถานะเงื่อนไขที่มีการเพิ่ม bias (ดังภาพ 15) ให้ผลไม่แตกต่างกัน ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับสถานะเงื่อนไขที่มีการเพิ่ม dosage

ตาราง 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Dosage กับ Bias ต่อความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ในสถานะเงื่อนไขที่มีการกำหนด dosage : 2×10^{15} ions/cm² (คงที่) และ bias : 2.5 , 3.5 และ 5.0 kV

Dosage ions / cm ²	Bias (kV)	Total No. of observed colonies	No. of white colonies (mutant)	Mutation frequency (%)
2×10^{15}	2.5	1725	1031	59.8
2×10^{15}	3.5	970	579	59.7
2×10^{15}	5.0	964	610	63.2



ภาพ 15 กราฟแสดงการเปรียบเทียบระหว่าง Dosage : 2×10^{15} ions/cm² (คงที่) กับ Bias 2.5 , 3.5 และ 5.0 kV

2.3 การเปรียบเทียบลำดับเบสของ *LacZ* gene ที่ผ่านการเหนี่ยวนำด้วย

พลาสมา

หลังจากการคัดเลือกโคโลนีสีขาวพร้อมกับ subculture โคโลนีสีขาว 5 รุ่น และสกัดพลาสมิดที่ได้คัดเลือกและเพื่อส่งไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท First base ประเทศมาเลเซีย โดยส่งไปหาลำดับเบสเป็นจำนวน 25 โคลน โดยได้ใช้สัญลักษณ์แทนแต่ละโคลนคือ L (L1-L25) และเมื่อได้ข้อมูลแล้วนำมาวิเคราะห์เป็นจำนวน 5 โคลนคือ L1 , L6 , L10 , L18 และ L20 ซึ่งภาพที่ 16 เป็นการเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับโคลน L6 พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสดำแหน่งที่ 136 (บริเวณขีดเส้นใต้) ของ *LacZ* gene ซึ่งเกิดการกลายพันธุ์แบบ deletion ของเบส C ทำให้เกิด frame-shift ขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดการกลายพันธุ์

L6 : Nucleotide sequence

```
L6      ATGACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGG 60
pUC19  ATGACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGG 60
*****

      HindIII

L6      CATGCAAGCTTGGCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCTGGCGTT 120
pUC19  CATGCAAGCTTGGCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCTGGCGTT 120
*****

      136

L6      ACCCAACTTAATCGC-TTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAG 179
pUC19  ACCCAACTTAATCGCCTTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAG 180
*****

L6      GCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGCCTGATG 239
pUC19  GCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGCCTGATG 240
*****

      NdeI

L6      CGGTATTTTTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATATGGTGCCTCTCAGT 299
pUC19  CGGTATTTTTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATATGGTGCCTCTCAGT 300
*****

L6      ACAATCTGCTCTGATGCCGCATAG 323
pUC19  ACAATCTGCTCTGATGCCGCATAG 324
*****
```

ภาพ 16 การเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับ L6

บริเวณที่ขีดเส้นใต้ คือ บริเวณเบส C หายไปที่ตำแหน่ง 136 บริเวณของ *LacZ* gene เมื่อเทียบกับ pUC19 (control)

ภาพที่ 17 เป็นการเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับ โคลน L20 พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสที่ตำแหน่งจุดตัด เอนไซม์ *Hind*III (บริเวณขีดเส้นใต้) ที่ตำแหน่ง 71 ของ *LacZ* gene ซึ่งเกิดการกลายพันธุ์แบบ deletion ของเบส T ทำให้เกิด frame-shift ขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดการกลายพันธุ์

L20 : Nucleotide sequence

```

L20      ATGACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGG 60
pUC19    ATGACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGG 60
*****

          HindIII
L20      CATGCAAGCT_GGCACCTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCTGGCGTT 119
pUC19    CATGCAAGCT_GGCACCTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCTGGCGTT 120
*****

L20      ACCCAACTTAATCGCCTTGCGCAGACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAG 179
pUC19    ACCCAACTTAATCGCCTTGCGCAGACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAG 180
*****

L20      GCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGCCTGATG 239
pUC19    GCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGCCTGATG 240
*****

          NdeI
L20      CGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATATGGTGCCTCTCAGT 299
pUC19    CGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCCGCATATGGTGCCTCTCAGT 300
*****

L20      ACAATCTGCTCTGATGCCGCATAG 323
pUC19    ACAATCTGCTCTGATGCCGCATAG 324
*****

```

ภาพ 17 การเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับ L20

บริเวณที่ขีดเส้นใต้ คือ บริเวณที่เบส T หายไปในบริเวณจุดตัดของเอนไซม์ *Hind*III ที่ตำแหน่ง 71 ที่บริเวณของ *LacZ* gene เมื่อเทียบกับ pUC19 (control)

ภาพ 18 เป็นการเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับ L1 โดยมีการเปรียบเทียบเฉพาะส่วนของ *LacZ* gene ในตำแหน่งของ start codon จนถึงตำแหน่งของ stop codon ซึ่งพบว่าการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสทั้งหมด 143 ตำแหน่ง ซึ่งแสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของลำดับในตารางที่ 17

L1: Nucleotide sequence

Start codon

```

L1          ATGACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGG 60
pUC19      ATGACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGG 60
*****

L1          CATGCAAGCTTGCAGTGCTGAATTATAGCTATCGATTTTATCTTGAGGCTGAGCTCTTGG 120
pUC19      CATGCAAGCTTG--GCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGG--AAAACCCTGG 116
***** * ** * * * * * * * * * * * * * * *

L1          TAAAAACTTATAGCAAACTCATAAAAAATTAACAGAAGCTCTGAAGACCTTGTATTTTT 180
pUC19      CGTTACCCAACCTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCC---CTTCGCCAGCTGGCGTAAT- 171
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

L1          ATCAAATAATACCCCTTGAACCTCATTACAAAACGCATCTTTTTTTCTTGAATATCTAT 240
pUC19      AGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCAACAG---TTGCGCAGCCTGAATGGCGAA 228
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

L1          GGGGTGTTCTTTGACTCTGACAAAGATGAAATCTCATC--TATTTTGTITT-CATATGG 297
pUC19      TGGCGCCTGATGCGGTATTTTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATATGG 288
** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

Stop codon

L1          TGCCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAG 333
pUC19      TGCCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAG 324
*****

```

ภาพ 18 การเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับ L1

ภาพที่ 19 เป็นการเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับ L10 โดยมีการเปรียบเทียบเฉพาะส่วนของ *LacZ* gene ในตำแหน่งของ start codon จนถึงตำแหน่ง stop codon ซึ่งพบว่าการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสทั้งหมด 126 ตำแหน่ง ซึ่งแสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของลำดับในตารางที่ 18

L10 : Nucleotide sequence

```

Start codon
L10      ATGACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGTACCCGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGG 60
pUC19    ATGACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGTACCCGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGG 60
          *****

L10      CATGCAAGCTTGTGACAGGGGTAACGTTCCGGCAATAATTT--TCTGCCGCATGCCGGT 118
pUC19    CATGCAAGCT---TGGCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGC 117
          *****  * * * * *      * * * * *      * * * * *      * * * * *

L10      GTTGCATAA----AACGTGTT-----ACGTTCCCTTATCGACAGGTCAGGT----- 160
pUC19    GTTACCCAACCTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAA 177
          * * * * *      * * * * *      * * * * *      * * * * *      * * * * *

L10      -----CACCGCTCACCCG--CCGACGAGAAAGCAAC---ACTGAC--ATG----CTA 201
pUC19    GAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGCCTG 237
          * * * * *      * * * * *      * * * * *      * * * * *      * * * * *

L10      AAGCAAAAATAG-----ATGAATAAGTTGAGTTGT-----GCATATGGTGCCTCTC 249
pUC19    ATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCGCATATGGTGCCTCTC 297
          * * * * *      * * * * *      * * * * *      * * * * *      * * * * *

Stop codon
L10      AGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAG 276
pUC19    AGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAG 324
          *****

```

ภาพ 19 การเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับ L10

ภาพที่ 20 เป็นการเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับ L18 โดยมีการพิจารณาเฉพาะส่วนของ *LacZ* gene ในตำแหน่งของ start codon จนถึงตำแหน่ง stop codon ซึ่งพบว่าการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสทั้งหมด 142 ตำแหน่ง ซึ่งแสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของลำดับในตารางที่ 19

L18 : Nucleotide sequence

. Start codon

```

L18          ATGACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGG 60
pUC19       ATGACCATGATTACGAATTCGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGG 60
*****

L18          CATGCAAGCTTAAACT---CATAATTAAAAAAGATAAATATAAAAATATCAATGAGTC 117
pUC19       CATGCAAGCTTGGCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCTGGCGTT 120
*****      *** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

L18          AATCAATAATAATTTGGCATCACGAGACACATCACAGAGGAATATTATGAGCACAGAAAC 177
pUC19       ACCCAAC-----TTAATCGCCTTGACGACATCCC-----CCTTTCGCCAGCTGGCGT 168
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

L18          AATTGAAATATTCAATAATAGTGATGAATGGGCAAATCAACTAAAACACGCATTATCGAA 237
pUC19       AATAGCGAA---GAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCAAC--AGTTGCGCAGC-CTGAA 221
*** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

L18          AGGAGAAAATCTGGCATTACTACATGGTTAACTCCTGATATCCTTGATAGAATATAT-G 296
pUC19       TGGCGAATGGCGCCTGATGCGGTATTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTACACCG 281
** *** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

Stop codon

L18          CATATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAG 339
pUC19       CATATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAG 324
*****

```

ภาพ 20 การเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่าง pUC19 (control) กับ L18

2.4 รูปแบบการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสใน *LacZ* gene ที่ผ่านการเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา

หลังจากการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสแล้ว ได้ทำการวิเคราะห์รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบส ซึ่งพบรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสแบบ transition และ transversion คิดเป็น 38 % และ 53 % ในขณะที่พบแบบ deletion และ insertion คิดเป็น 2 % และ 8 % ตามลำดับ โดยในโคลน L1 พบการเปลี่ยนแปลงแบบ transversion มากที่สุด ดังตาราง 17

ตาราง 17 แสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสจากการใช้ *LacZ* gene ไปเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา (โคลน L1)

Mutational type	Number of occurrence	Frequency (%)
Transition	53	37
A → G	6	4
G → A	14	9
C → T	25	17
T → C	8	7
Transversion	75	53
A:G → C:T	37	26
C:T → A:G	38	27
Deletion	3	2
-G	3	2
Insertion	12	8
+A	4	3
+G	2	1
+C	3	2
+T	3	2
Total	143	100

ในตาราง 18 แสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของโคลน L10 ซึ่งพบรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสแบบ transition และ transversion คิดเป็น 27 % และ 31 % ตามลำดับ ในขณะที่พบแบบ deletion และ insertion คิดเป็น 41 % และ 2 % ตามลำดับ โดยในโคลน L10 พบการเปลี่ยนแปลงแบบ deletion มากที่สุด ดังตารางที่ 18

ตาราง 18 แสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสจากการใช้ *LacZ* gene ไปเหนี่ยวนำด้วย พลาสมา (โคลน L10)

Mutational type	Number of occurrence	Frequency (%)
Transition	33	27
A → G	6	5
G → A	13	10
C → T	12	10
T → C	2	2
Transversion	39	31
A:G → C:T	10	8
C:T → A:G	29	23
Insertion	3	2
+G	1	1
+T	2	1
Deletion	51	41
-A	12	10
-G	11	9
-C	17	13
-T	11	9
Total	126	100

ในตาราง 19 แสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของโคลน L18 ซึ่งพบรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสแบบ transition และ transversion คิดเป็น 37 % และ 47% ตามลำดับ ในขณะที่พบแบบ deletion และ insertion คิดเป็น 3 % และ 13 % ตามลำดับ โดยในโคลน L18 พบการเปลี่ยนแปลงแบบ transversion มากที่สุด ดังตารางที่ 19

ตาราง 19 แสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสจากการใช้ *LacZ* gene ที่ผ่านการเหนี่ยวนำด้วยพลาสมา (โคลน L18)

Mutational type	Number of occurrence	Frequency (%)
Transition	53	37
A → G	4	3
G → A	21	15
C → T	19	13
T → C	9	6
Transversion	66	47
A:G → C:T	19	13
C:T → A:G	47	34
Deletion	4	3
-G	2	1.5
-C	2	1.5
Insertion	19	13
+A	12	8
+G	3	2
+C	1	1
+T	3	2
Total	142	100

2.5 ผลของไอออนพลาสติก (ในโครเจนไอออน) ต่อชนิดของเบสของ *LacZ* gene

เมื่อวิเคราะห์ผลของไอออนพลาสติก (ในโครเจนไอออน) ต่อชนิดของเบสของ *LacZ* gene ทั้ง 3 โคลนคือ L1 , L10 และ L18 ซึ่งในโคลน L1 พบว่าเบสที่ sensitivity ต่อพลาสติก (ในโครเจนไอออน) มากที่สุดคือ เบส Cytosine (C) คิดเป็น 33 % ซึ่งมากกว่าเบส G > T > A ตามลำดับ ดังตารางที่ 20

ตาราง 20 แสดงผลของเบสที่ sensitivity ต่อพลาสติก (ในโครเจนไอออน) ในโคลน L1

เบส (Base)	No. Base change occurred	Radiosensitivity (%)
A	25	17
G	41	29
*C	47	33
T	30	21

หมายเหตุ : * คือ เบสที่ sensitivity ต่อไอออนของพลาสติกมากที่สุด

ในตาราง 21 แสดงผลของไอออนพลาสติกที่ sensitivity ต่อชนิดของเบสในโคลน L10 พบว่าเบสที่ sensitivity ต่อพลาสติก (ในโครเจนไอออน) มากที่สุดคือ เบส Cytosine (C) คิดเป็น 33 % ซึ่งมากกว่าเบส T > G > A ตามลำดับ ดังตาราง 21

ตาราง 21 แสดงผลของเบสที่ sensitivity ต่อพลาสติก (ในโครเจนไอออน) ในโคลน L10

เบส (Base)	No. Base change occurred	Radiosensitivity (%)
A	23	18
G	30	24
*C	41	33
T	32	25

หมายเหตุ : * คือ เบสที่ sensitivity ต่อไอออนของพลาสติกมากที่สุด

ในตาราง 22 แสดงผลของไอออนพลาสมาที่ sensitivity ต่อชนิดของเบสในโคลน L18 พบว่าเบสที่ sensitivity ต่อพลาสมา (ไนโตรเจนไอออน) มากที่สุดคือ เบส Cytosine (C) คิดเป็น 35 % ซึ่งมากกว่าเบส G > T > A ตามลำดับ ดังตารางที่ 22

ตาราง 22 แสดงผลของเบสที่ sensitivity ต่อพลาสมา (ไนโตรเจนไอออน) ในโคลน L18

เบส (Base)	No. Base change occurred	Radiosensitivity (%)
A	25	17.6
G	36	25.4
*C	50	35
T	31	22

หมายเหตุ : * คือ เบสที่ sensitivity ต่อไอออนของพลาสมามากที่สุด

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการใช้พลาสมาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยการระดมยัติเอ็นเอ ซึ่งดีเอ็นเอที่ใช้คือพลาสมิด pUC19 และ *LacZ* gene โดยใช้ไอออนของไนโตรเจน โดยจะเห็นว่าผลของพลาสมาส่งผลต่อพลาสมิด pUC19 และ *LacZ* gene ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในระดับดีเอ็นเอ เพราะพลาสมา (ไอออนของไนโตรเจน) ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเบสในพลาสมิด pUC19 (โดยเฉพาะบริเวณของ *LacZ* gene) และใน *LacZ* gene โดยรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของเบสส่วนใหญ่จะพบแบบ deletion และ transversion (A/G ไปเป็น C/T และ C/T ไปเป็น A/G) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคลำไอออนพลังงานต่ำในงานวิจัยของ Yang *et. al.* (1997) โดยการทดลองใช้ไอออนของไนโตรเจนเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *LacZ* gene ซึ่งพบรูปแบบการเปลี่ยนแปลงแบบ transition (50 %) เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งให้ผลแตกต่างจากเทคนิคพลาสมา (ไนโตรเจนไอออน) โดยรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของเบสในลักษณะดังกล่าวและมีการเปลี่ยนแปลงในบริเวณของ *LacZ* gene จึงส่งผลต่อลักษณะทางฟีโนไทป์ทำให้แบคทีเรียเป็นสีขาว

เมื่อพิจารณาในกรณีเบสที่ sensitivity ต่อพลาสมา (ไนโตรเจนไอออน) มากที่สุดคือเบส Cytosine (C) ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Chang *et al.* (2003) ที่ใช้เทคนิคลำไอออนพลังงานต่ำมาเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *Arabidopsis* ซึ่งเป็นไอออนของไนโตรเจนพบว่าเบสที่ sensitivity ต่อลำไอออนพลังงานต่ำ (ไนโตรเจนไอออน) มากที่สุดคือเบส Thymine (T) ซึ่งต่างจากเทคนิคพลาสมา (ไนโตรเจนไอออน) แต่เบส C และ T อยู่ในกลุ่มของไพริมิดีน (pyrimidine) โดยอาจกล่าวได้ว่าเบสที่ sensitivity ต่อไนโตรเจนไอออนของไอออนบีมและพลาสมาจะเป็นกลุ่มของ ไพริมิดีน (pyrimidine)

ในส่วนของ dosage และ bias เป็นปัจจัยหลักที่มีอิทธิพลต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ โดยในการทดลองนี้ได้ทดลองกำหนดสภาวะเงื่อนไข dosage และ bias ขึ้น โดยพบว่าสภาวะเงื่อนไขของ dosage และ bias ที่กำหนดขึ้นนั้น มีผลต่อพลาสมิด pUC19 และ *LacZ* gene ซึ่งจะเห็นได้ว่า dosage และ bias มีผลต่อความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์โดยตรง โดยที่เมื่อเพิ่ม dosage ก็เป็นการเพิ่มปริมาณของไอออน ส่วนการเพิ่ม bias เสมือนกับการเพิ่มพลังงานให้กับไอออน โดยการเพิ่มทั้ง 2 เงื่อนไขจะมีผลทำให้ความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์เพิ่มขึ้น

ซึ่งจะเห็นว่าการนำเทคนิคพลาสมาทดลองกับงานทางด้านชีววิทยาก็สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้เช่นกันที่นอกเหนือจากเทคนิคลำไอออนพลังงานต่ำ ดังเช่นผลการศึกษาก่อนหน้านี้โดย Sarapirom *et. al.* (2010) ได้ศึกษาการระดมยัติเอ็นเอด้วยพลาสมา โดยดีเอ็นเอที่ใช้เป็นพลาสมิด pGFP (ขนาด 3344 bp) ซึ่งเมื่อนำพลาสมิดดังกล่าวมาระดมยัติด้วยพลาสมาโดยใช้

ไอออนของไนโตรเจนและอาร์กอนพบว่าพลาสมาส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและรูปร่างของพลาสมิด pGFP โดยผลการทดลองดังกล่าวยังไม่สามารถระบุได้ว่าพลาสมาสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ แต่ในผลการทดลองนี้สามารถระบุได้ว่าพลาสมาสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ เมื่อวิเคราะห์ชนิดของการกลายพันธุ์พบทั้งแบบ transition , transversion , deletion และ insertion ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดการกลายพันธุ์

ซึ่งจากการทดลองนี้เป็นการศึกษาต่อยอดจากการศึกษาของ Sarapirom *et. al.* (2010) โดยจากผลการศึกษาทั้งสองการทดลองสามารถยืนยันได้ว่าเทคนิคพลาสมาสามารถประยุกต์ใช้กับงานทางด้านชีววิทยาได้และจะยังมีการศึกษาเทคนิคพลาสมาต่อไปว่าจะมีประสิทธิภาพเช่นเดียวกับเทคนิคลำไอออนพลังงานต่ำที่มีการประยุกต์ใช้กับงานด้านต่างๆ หรือไม่ เพื่อที่จะพัฒนาเทคนิคพลาสมาในงานการส่งถ่ายดีเอ็นเอ หรือการเหนี่ยวนำให้เกิดการพันธุ์ในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง โดยเฉพาะ พืชเศรษฐกิจ เช่น ข้าว , ไม้ดอก หรือใช้เป็นเทคนิคในการค้นหาในอนาคต