195685

น้ำทิพย์ เที่ยงตรง 2550: การทดสอบไมโครนิวเคลียสและความผิดปกติของโครโมโซมในเซลล์ TK6 ด้วยสิ่งก่อการกลาย ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา) สาขาชีววิทยา ภาควิชาสัตววิทยา ประธานกรรมการที่ปรึกษา: อาจารย์กันทิมาณี พันธุ์วิเชียร, วท.ด. 65 หน้า

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบอัตราการเกิดความผิดปกติของดีเอ็นเอในเซลล์ TK6 ด้วยวิธีการทดสอบไมโครนิวเคลียสและความผิดปกติของโครโมโซม ซึ่งเหนี่ยวนำด้วยสารก่อการกลาย 3 ชนิด คือ mitomycin C (MMC), methyl methanesulfonate (MMS) และ etoposide (VP-16) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันในระยะเวลา 4 และ 24 ชั่วโมง โดยการทดสอบไมโครนิวเคลียสใช้เทคนิค cytokinesis-block วิเคราะห์ผลจากเซลล์ระยะที่มีสองนิวเคลียส (binucleated cell) และการทดสอบความผิดปกติของโครโมโซมวิเคราะห์ผลจากเซลล์ในระยะเมทาเฟส (metaphase cell) จากนั้นเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของอัตราการเกิดไมโครนิวเคลียส และอัตราความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดขึ้น

ผลการวิจัยพบว่าสารเหนี่ยวนำทั้ง 3 ชนิดก่อให้เกิดความผิดปกติของดีเอ็นเอในลักษณะที่เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นทั้ง 2 การทดสอบ โดยสาร MMC เหนี่ยวนำอัตราเกิดไมโครนิวเคลียสและความผิดปกติของโครโมโซมมากกว่าสาร MMS และ VP-16 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อัตราการเกิด ไมโครนิวเคลียสที่เหนี่ยวนำด้วย MMC, MMS และ VP-16 เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบผลที่ระยะ เวลา 4 กับ 24 ชั่วโมง ในขณะที่อัตราการเกิดความผิดปกติของโครโมโซมที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันกับที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยรูปแบบความผิดปกติของโครโมโซมที่พบส่วนใหญ่เกิดบนแท่งโครมาติด (chromatid) เป็นแบบ gap และ break

การวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเซลล์ TK6 เป็นเซลล์อีกชนิดหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการทดสอบผลของสารเคมีที่คาดว่าจะเป็นสิ่งก่อการกลายต่อความผิดปกติของดีเอ็นเอได้ และเซลล์ TK6 ยังมีคุณสมบัติที่ดีคือสามารถเจริญเติบโตแบบแขวนลอย (suspension) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องใช้เอ็นไซม์ทริปซินเพื่อย่อยผนังเซลล์ในขั้นตอนการเก็บเกี่ยวเซลล์ ซึ่งนอกจากจะช่วยให้ปฏิบัติงานได้เร็วขึ้นแล้ว ยังเลี่ยงปัญหารบกวนผลการทดลองจากทริปซินด้วย

195685

Namthip Theangtrong 2007: Micronucleus and Chromosome Aberration Assays in TK6 Cells by Mutagens. Master of Science (Biology), Major Field: Biology, Department of Zoology. Thesis Advisor: Miss Kantimanee Phanwichien, Ph.D. 65 pages.

This study had been carried out with the aim to compare the results of DNA damage in TK6 cells using the micronucleus and chromosome aberration assays induced by various concentrations of mitomycin C (MMC), methylmethanesulfonate (MMS) and etoposide (VP-16) for 4 and 24 hours. The cytokinesis-block micronucleus assay allowed measurement of DNA damage in binucleated cells. For chromosome aberration assay, results were measured in metaphase cells. Then the correlation between the induction of micronucleus and formation of the chromosome aberration was compared.

Results shown that MMC, MMS and VP-16 induced micronucleus and chromosome aberrations in TK6 cells in a dose-dependent manner. Among three of them, micronucleus and chromosome aberration induced by MMC was statistically significant ($p \leq 0.05$) greater than that of MMS and VP-16. It was also noticed that at 4 and 24 hr-treatments, micronucleus frequencies were slightly increased for all three chemicals whereas aberrations of chromosomes were not obviously changed. The major aberrations of chromosomes found were chromatid-gap and chromatid-break.

The present study indicated that TK6 could be the cell line used in genotoxicity test of potential mutagens. The beneficiary of TK6 cells is their ability to grow as cell suspension. Therefore, trypsinisation step for cell detachment is not needed. This can not only shorten the experimental time, but also avoid interfering of experimental results with trypsin.