บทคัดย่อ

T144112

ปัจจุบันมีการนำเทคนิค PCR (polymerase chain reactio) มาใช้กันมากและขั้นตอนหนึ่งที่ใช้ในการตรวจสอบ PCR product คือ การ run gel electrophoresis ซึ่งเทคนิค electrophoresis เป็นการแยกสารด้วยกระแสไฟฟ้า มีองค์ประกอบหลักได้แก่ อนุภาคที่มีประจุ ตัวกลางค้ำจุน และสนามไฟฟ้า ตัวกลางค้ำจุนที่ใช้ในงาน electrophoresis ที่ดีมีสมบัติเฉื่อย ไม่มีประจุ ยอมให้อนุภาคที่เคลื่อนที่ได้โดยเกิดทางยาว ตัวกลางที่นิยมใช้คือวุ้นซึ่งวุ้นประกอบด้วย agarose และ agaropactin และเพื่อลดอิทธิพลของประจุนตัวกลางค้ำจุนจึงมีการกำจัด agaropactin ออกเหลือแต่ agarose ซึ่ง agarose มีราคาแพงมาก หากสามารถนำวุ้นที่ผลิตในประเทศไทยมาใช้แทนได้ จะช่วยให้เกิดการประหยัด ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบระหว่าง agarose นำเข้ากับวุ้นที่ผลิตในประเทศไทยในการทำ gel electrophoresis โดยวุ้นที่ผลิตในประเทศไทยที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มี 4 ชนิด คือ วุ้นตรานางเงือก นางกวัก โทรศัพท์ และตราจรวด สำหรับ DNA ที่ใช้ได้นำเอา PCR product ซึ่งใช้ขนาดของ DNA ต่างกัน 4 กลุ่ม คือ DNA ขนาดประมาณ 100 bp – 300 bp, 300 bp – 500 bp, 500 bp – 800 bp และ 800 bp – 1000 bp ขั้นตอนแรกเป็นการคัดกรองโดยเลือก DNA 2 กลุ่ม ที่มีขนาดประมาณ 300 bp – 500 bp และ 500 bp – 800 bp มาทำการศึกษาพบว่า วุ้นตรานางเงือกและตราโทรศัพท์ ได้ค่าความคมชัดของ band ดีที่สุด แต่ค่าความแม่นยำในการ run gel electrophoresis ไม่แตกต่างในวุ้น 4 ชนิดที่นำมาศึกษา ต่อจากนั้นจึงได้นำเฉพาะวุ้นตรานางเงือกและตราโทรศัพท์มาศึกษากับ DNA ขนาดประมาณ 100 bp – 300 bp และประมาณ 800 bp – 1000 bp พบว่าวุ้นตรานางเงือกให้ความแม่นยำในการ run gel electrophoresis ดีกว่าวุ้นตราโทรศัพท์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P value = 0.030,0-0.012) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง agarose กับวุ้นตรานางเงือก โดยใช้ DNA ขนาดเล็ก (100 bp – 300 bp) พบว่า agarose ให้ความแม่นยำมากกว่าในขณะที่ DNA ขนาดใหญ่ (800 bp – 1000 bp) วุ้นตรานางเงือกให้ความแม่นยำมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P value < 0.0005) ถึงอย่างไรก็ดีเมื่อดูในภาพรวมทั้ง 3 องค์ประกอบคือ ความแม่นยำ ความคมชัดของ band และความสะอาดของเนื้อวุ้น สามารถนำวุ้นตรานางเงือกและตราโทรศัพท์มาใช้แทน agarose ในการ run gel electrophoresis เพื่อเช็คขนาดของ PCR product ที่มีขนาด 100 bp – 1000 bp ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าวุ้นที่ผลิตในประเทศไทยมีราคาถูกกว่า และเนื้อวุ้นใช้เวลาในการแข็งตัวเร็วกว่า agarose การที่สามารถนำวุ้นที่ผลิตในประเทศไทยมาใช้เป็นตัวกลางค้ำจุนแทน agarose ในการทำ gel electrophoresis จะลดต้นทุนในการตรวจวิเคราะห์ได้

Abstract

TE144112

Now a day, Polymerase Chain Reaction (PCR) has been commonly done in various experiments. To identify PCR products, they were simultaneously run under electric fields by gel electrophoresis. Generally, supporter used in gel electrophoresis must be inert, non-ionic and allowed DNA to moved throughly during electrophoresis. The most commonly supporter has been well known as gel which is composed of agarose and agaropactin. In order to reduce the ionic charge, an agaropactin was separated out that only agarose still remains. Actually, only agarose is very expensive. To reduce the cost of the study, we used a commercially gel products available sold in supermarket as supporters instead of agarose. In our studies 4 kinds of gel products : Pearl Mermaid, Nang kwuak, Trorasub and Jaruad were used as supporter in gel electrophoresis and were compaired to agarose. In our experiments 4 sizes of DNA samples from PCR product which are 100 bp – 300 bp, 300 bp – 500 bp, 500 bp – 800 bp and 800 bp – 1000 bp were used. Both 2 groups of 300 bp – 500 bp and 500 bp – 800 bp were screened as our preliminary study. It was found that gel branded as Pearl Mermaid and Trorasub gave the highest qualities of sharpness while the precision was not different among all 4 branded gel. Subsequently, 2 group of DNA (100 bp – 300 bp and 800 bp – 1000 bp) were use to run by gel electrophoresis using Pearl Mermaid and Trorasub gel and their sharpness of PCR product were compared. As a results the precision of Pearl Mermaid was higher than Trorasub with statistically significant (P value = 0.030, 0.012). When short DNA was compared for their precision between agarose and Pearl Mermaid gel, agarose was better with statistically significant (P value < 0.0005) As concluded, Pearl Mermaid and Trorasub gel can be used as supporter instead of agarose due to their precision, sharpness and clearances in gel electrophoresis when PCR products, 100 bp – 1000 bp, were used. Moreover, both types of gel are much more cheaper than agarose that can reduce some costs of expensive in molecular biology laboratories.