

การปรับปรุงวิธีการแยกดีเอ็นเอเพื่อใช้ในห้องปฏิบัติการ

นางสาว นุชรินทร์ จักรธีรังกูร
นางสาว อภินันท์ ทวีติยานนท์

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2542

MODIFICATION OF DNA EXTRACTION PROCEDURE
FOR LABORATORY USE

MISS NUCHARIN JAKTEERUNGKUL

MISS APINEE DVITIYANANDA

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULLFILMENT
OF THE REQUIREMENT FOR
THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY

1999

บทคัดย่อ

ในรายวิชาชีวเคมีปฏิบัติการ (ภกชค 212) นักศึกษาไม่สามารถปฏิบัติการเรื่อง “การแยกดีเอ็นเอและคุณสมบัติของดีเอ็นเอ” ได้ทันในเวลาปฏิบัติการที่กำหนด เนื่องจากนักศึกษาใช้เวลาส่วนใหญ่ในการสกัดดีเอ็นเอจากเลือดไก่ โดยเฉพาะขั้นตอนที่ใช้เอนไซม์โปรตีเอสซึ่งมีราคาแพงและใช้เวลาถึง 40 นาที และขั้นตอนการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนของดีเอ็นเอในสารละลายซึ่งใช้เวลา 25 นาที จึงมีจุดประสงค์การทดลองครั้งนี้ เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว นอกจากนี้ยังต้องการหาเวลาเก็บเลือดที่เหมาะสมโดยไม่ทำให้ปริมาณดีเอ็นเอเปลี่ยนแปลง เพื่อความสะดวกในการเก็บตัวอย่างเลือด จากการทดลองพบว่า การเก็บเลือดไก่ที่ 4°C หรือเก็บเฉพาะเม็ดเลือดที่ 0°C เป็นเวลา 21 วัน ก็ไม่ทำให้ปริมาณดีเอ็นเอเปลี่ยนแปลงจากเดิมอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่าแม้ไม่ใช้เอนไซม์โปรตีเอสในการสกัดดีเอ็นเอ ปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้มีปริมาณที่ไม่แตกต่างจากการใช้เอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนเวลาในการปั่นเหวี่ยงสามารถลดลงจาก 25 นาที เหลือเพียง 10 นาที การนำผลการศึกษานี้ไปปรับปรุงใช้กับวิชาชีวเคมีปฏิบัติการจะสามารถลดค่าใช้จ่ายได้ 21% และสามารถลดเวลาที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอจาก 2 ชั่วโมง เหลือเพียง 1 ชั่วโมง

Abstract

In biochemistry laboratory course (PYBC 212), the students can not finish their experiment "Isolation and Characterization of DNA" within laboratory period. Because of the time consuming process of the DNA isolation from chicken blood, especially in the step using enzyme protease which is costly needs 40 minutes for incubation period. And also the centrifugation for separation the pellet from DNA solution which consumes 25 minutes. The aim of this project is to solve these problems for reducing time using in these two steps. The studies of storage conditions of chicken blood without effecting the yield of extracted DNA was also conducted in order to be convenient for collecting blood samples. It was found that both storing whole blood at 4°C and blood cell at 0°C within 21 days would not effect the yield of extracted DNA comparing to the control. It was also found that even without using enzyme protease, the amount of extracted DNA was non-significant different from control. And the centrifugation time may be reduced from 25 minutes to 10 minutes to separate clearly. According to the results we are able to reduce the cost of DNA extraction by 21% and the DNA extraction time from 2 to 1 hour.