

การพัฒนาเม็ดไคโตซานที่มีคุณสมบัติเป็นแม่เหล็ก
เพื่อใช้สกัดดีเอ็นเอ

นางสาว จุฑามาศ ผลตระกูล
นางสาว พรพิมล พิณจสณิต

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ. 2551

DEVELOPMENT OF MAGNETICALLY CHITOSAN
BEADS FOR DNA EXTRACTION

MISS CHUTAMAS PONTRAKUL
MISS PORNPIMON PINIDSATHIL

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

โครงการพิเศษ

เรื่อง การพัฒนาเม็ดโคโคซานที่มีคุณสมบัติเป็นแม่เหล็กเพื่อใช้สกัดดีเอ็นเอ

.....
(นส.จุฑามาศ ผลตระกูล)

.....
(นส.พรพิมล พิณจิตถิล)

.....
(ผ.ศ.ดร.วิเชษฐ ลีลามานิตย์)
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....
(อ.สุรัชย์ งามรัตน์ไพบูลย์)
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การพัฒนาเม็ดโคโตซานที่มีคุณสมบัติเป็นแม่เหล็กเพื่อใช้สกัดดีเอ็นเอ

จุฑามาศ ผลตระกูล, พรพิมล พินิจสถิต

อาจารย์ที่ปรึกษา : วิเชษฐ์ ลีลามานิตย์, สุรัชย์ งามรัตน์ไพบูลย์

ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : โคโตซาน, แม่เหล็ก, การสกัดดีเอ็นเอ

ในปัจจุบันมีวิธีการสกัดดีเอ็นเออยู่หลายวิธี แต่ละวิธีมีข้อดีข้อเสียที่แตกต่างกันไป Phenol-Chloroform method แม้ว่าจะสามารถแยกดีเอ็นเอให้มีความบริสุทธิ์ได้ แต่ใช้เวลาในการสกัดนานและมีความจำเป็นต้องใช้ฟีนอลและคลอโรฟอร์มซึ่งจัดเป็นสารเคมีที่มีอันตรายสูง Alkalinelysis method เป็นวิธีที่สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ปริมาณมาก ภายในเวลาไม่นานนัก แต่ดีเอ็นเอที่สกัดได้มีคุณภาพต่ำกว่า Phenol-Chloroform method

โคโตซานเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ มีโครงสร้างเป็น mucopolysaccharide พบได้ในสัตว์ทะเลพวกครัสเตเชียน โดยคุณสมบัติของโคโตซาน เมื่อโคโตซานอยู่ในสารละลายกรดจะมีประจุบวก สามารถจับกับสารที่มีประจุลบได้ ซึ่งหมู่ฟอสเฟตของดีเอ็นเอมีประจุลบ ทำให้โคโตซานสามารถยึดติดกับดีเอ็นเอ และสามารถนำมาพัฒนาเพื่อใช้ในการสกัดดีเอ็นเอได้

การศึกษาในครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อเตรียมเม็ดโคโตซานที่มีคุณสมบัติความเป็นแม่เหล็กในการสกัดดีเอ็นเอ และประเมินผลการสกัดดีเอ็นเอเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยวิธีเดิม ซึ่งได้แก่ Phenol-Chloroform method และ Alkalinelysis method โดยทำการศึกษาหาปัจจัยที่อาจมีผลต่อการสกัดดีเอ็นเอ และหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดดีเอ็นเอโดยใช้เม็ดโคโตซานที่มีคุณสมบัติความเป็นแม่เหล็ก โดยผลการศึกษาพบว่าสภาวะความเป็นกรด-เบส และความเข้มข้นของเกลือ มีผลต่อการสกัดดีเอ็นเอ ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดดีเอ็นเอโดยใช้เม็ดโคโตซานที่มีคุณสมบัติความเป็นแม่เหล็ก คือที่พีเอช 6 และความเข้มข้นของเกลือโซเดียมที่ 1 โมลาร์

Abstract

Development of magnetically chitosan beads for DNA extraction

Chutamas pontrakul, Pornpimon pinidsathil

Project advisor : Wichet Leelamanit, Surachai Ngamratanapaiboon

Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keyword : Chitosan, Magnetic, Bead, DNA extraction

Nowadays, there are many DNA extraction methods to choose when you want to extract DNA. Each method has its own advantages-disadvantages. Even though, phenol-chloroform method can separate pure DNA from interfering species, but it takes a long time to complete the procedure. Using phenol-chloroform is another drawback of this method because it is very harmful agent. Alkaline lysis method can separate complex mixture to get large amount of DNA in short period but quality of extracted DNA is lower than phenol-chloroform method.

Chitosan, mucopolysaccharide substance is natural product that derived from crustacean shells. In acidic solution, chitosan has positive charges that can attract anionic substance such as phosphate group of DNA so chitosan can be developed for using in DNA extraction.

The goals of this study were to synthesis magnetite coated chitosan for DNA extraction, to evaluate the quality and quantity of DNA extracted from magnetite coated chitosan compared to DNA extracted from phenol-chloroform method and alkaline lysis method, to find factors that may affect DNA extraction and to find the best condition of DNA extraction. In the study we found that acid-base condition, concentration of salt affected in DNA extraction and the best condition should be used in DNA extraction are pH 6 and concentration of NaCl 1 molar.