สำนักวิทยบริการ มหาวิทยาลัยบูรพา

รายงานการวิจัยทุนวิจัยคณะวิทยาศาสตร์

ปี งบประมาณ พ.ศ. 2546

เรื่อง ศึกษาการสร้างชุดเครื่องมือถ่ายโอนดีเอ็นเอแบบยิงอนุภาคห่อหุ้มดีเอ็นเอ

กนกพร สมพรไพลิน

วราวุฒิ เถาลัดดา

บทคัดย่อ

ได้มีความพยายามในการถ่ายโอนดีเอ็นเอเข้าสู่เนื้อเยื่อที่มีชีวิตในพืชหลายชนิด การใช้อนุภาคนำดีเอ็นเอเข้าสู่เนื้อเยื่อโดยวิธีการยิง (bombardment) เป็นเทคนิคหนึ่งที่ได้รับความนิยมสูง เนื่องจากทำได้สะดวกและสามารถตรวจสอบผลการแสดงออกของยีนที่อยู่บนชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ในระยะเวลาสั้น ในที่นี้ได้ออกแบบพัฒนาอุปกรณ์ให้ได้เครื่องมือที่มีความสะดวกต่อการยิงอนุภาคห่อหุ้มดีเอ็นเอในแต่ละครั้ง โดยเครื่องมือที่ออกแบบขึ้นใช้ระยะเวลาในการเตรียมและยิงอนุภาคเข้าสู่ตัวอย่างน้อยกว่าเครื่องมือที่มีอยู่ เพื่อเพิ่มความสะดวกในการยิงตัวอย่างจำนวนมาก แต่ยังพบปัญหาเรื่องวาล์วควบคุมการปล่อยก๊าซฮีเลี่ยมด้วยระบบไฟฟ้านั้น มีเพียงชนิดเดียวคือระบบโซลีนอยล์วาล์ว การเปิดระบบของวาล์วชนิดนี้ช้าเกินไปมีผลให้แรงดันในการยิงต่ำ อนุภาคจึงกระจายตัวได้ไม่ดีเท่าที่ควร

บทนำ

งานด้านอณูชีววิทยา (molecular biology) แม้จะเติบโตไม่นานนักแต่ได้ก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะมีรายงานความสำเร็จในการหาลำดับดีเอ็นเอ ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น ยีสต์ พืช รวมถึงในมนุษย์ด้วย แม้ว่าได้มีรายงานความสำเร็จในการหาลำดับดีเอ็นเอในสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เพิ่มเติมเป็นจำนวนมากแต่ความรู้เกี่ยวกับลำดับดีเอ็นเอจะไร้ประโยชน์ ถ้าไม่ทราบหน้าที่ของลำดับดีเอ็นเอเหล่านั้น ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการศึกษาลำดับหน้าที่ของลำดับดีเอ็นเอควบคู่ไปกับการแยกและหาลำดับดีเอ็นเอ เทคนิคที่สำคัญในการศึกษาหน้าที่ของลำดับดีเอ็นเอวิธีหนึ่งคือการถ่ายยีนเข้าสู่เซลล์หรือเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะสิ่งมีชีวิตชั้นสูงต้องการพัฒนาเทคนิคที่ซับซ้อนมากกว่าการถ่ายโอนยีนเข้าสู่เซลล์เดียว การถ่ายโอนยีนโดยเทคนิคการยิงอนุภาคขนาดเล็กที่มีดีเอ็นเอห่อหุ้ม (DNA-coat particle bombardment) เข้าสู่ชิ้นเนื้อเยื่อโดยใช้แรงดันอากาศสูง เป็นเทคนิคที่ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางเนื่องจากการศึกษาหน้าที่ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอทำได้สะดวก รวดเร็ว และและให้ประสิทธิประสิทธิภาพการถ่ายโอนดีเอ็นเอสูง การถ่ายโอนยีนด้วยเทคนิคยิงอนุภาคห่อหุ้มดีเอ็นเอนี้ ไม่ได้ขึ้นกับระบบชีวเคมีจำเพาะของสิ่งมีชีวิต จึงสามารถประยุกต์ใช้ได้กับสิ่งมีชีวิตทั่วไป เช่นแบคทีเรีย (Shark และ คณะ 1991, Smith และคณะ 1992) รา (Ammaleo และคณะ1990) และอวัยวะภายในเซลล์ (Johnston และ คณะ 1988) เทคนิคการ

RCH
OH
442.2
ก1245

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 58936
วัน,เดือน,ปี 17 ก.พ. 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

b.11506344
i.....

ยิงอนุภาคดีเอ็นเอนี้เป็นวิธีทางฟิสิกส์ซึ่งมีความสะดวก และรวดเร็วกว่าเทคนิคไมโครอินเจ็คชั่น (microinjection) และสามารถสร้างสิ่งมีชีวิตแปลงพันธุ์ ซึ่งแสดงลักษณะทางพันธุกรรมของยีนที่สนใจแบบชั่วคราวและถาวร โดยใช้ดีเอ็นเอในการถ่ายโอนเพียงเล็กน้อยแต่ให้ประสิทธิภาพสูง นอกจากนั้นยังสามารถใช้ถ่ายโอนอาร์เอ็นเอ (RNA) ได้อีกด้วย (Qiu และคณะ 1996) เทคนิคการยิงอนุภาคห่อหุ้มดีเอ็นเอนี้เริ่มนำมาใช้ถ่ายโอนยีนเข้าสู่พืช (Llein และคณะ 1987, 1998 McCabe และคณะ 1988) ต่อมาได้มีการพัฒนาเทคนิคให้ใช้ได้กับเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Zelenin และคณะ 1989 Yang และคณะ 1990, Williams และคณะ 1991) นอกจากนี้ยังมีการถ่ายโอนยีนในสัตว์ทดลองสำหรับเป็นแนวทางการถ่ายโอนยีนในมนุษย์เพื่อรักษาโรคต่างๆ การยิงยีนนี้มักนำมาใช้ในการศึกษาหน้าที่และตำแหน่งการแสดงออกของดีเอ็นเอ เช่น การศึกษาการแสดงออกของโปรโมเตอร์ (promoter) หรือยีน โดยรวมส่วนของโปรโมเตอร์หรือยีนนี้เข้ากับยีนเครื่องหมาย (marker gene) เช่นยีนซึ่งให้เอนไซม์ β-glucureaindase หรือยีนซึ่งให้ปีตีนเรื่องแสง (green fluorescent protein: GFP) (Sompornpailin และคณะ 2002)

การยิงยีนเข้าสู่เนื้อเยื่อจำเพาะต้องการการปรับปัจจัยทางฟิสิกส์ที่เหมาะสม ปัจจัยนี้มีผลต่อโมเมนตัมของอนุภาค จำนวนอนุภาคที่ปะทะต่อเนื้อเยื่อและจำนวนดีเอ็นเอที่เข้าสู่เซลล์โดยการนำของอนุภาคเหล่านี้ การยิงอนุภาคห่อหุ้มดีเอ็นเอนั้น มักจะใช้แรงดันของฮีเลียมซึ่งมีน้ำหนักของอะตอมต่ำ ก๊าซนี้กระจายตัวได้ดีเมื่ออยู่ในสภาวะความกดดันสูงและส่งผลให้สามารถเร่งอนุภาคเร่งสู่เซลล์เป้าหมายได้ (BIO-RAD) อนุภาคที่ใช้นั้นอาจเป็นทองหรือทังสเตน แต่ทั้งนี้มีรายงานถึงการถ่ายโอนยีนโดยใช้ทังสเตนนั้นอาจทำลายดีเอ็นเอและอาจเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อเลี้ยงในระยะยาวได้ (Sanford และคณะ 1993) ขนาดของอนุภาคจะมีผลต่อความเร็วในการยิง จำนวนอนุภาค จำนวนดีเอ็นเอ และระยะห่างในการยิง อนุภาคขนาดเล็กจะลดการทำลายเซลล์และเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายโอนดีเอ็นเอ โดยทั่วไปจะใช้ขนาดอนุภาคประมาณ 1-3 μm ทั้งนี้การเลือกใช้จะขึ้นอยู่กับเซลล์หรือชิ้นเนื้อเยื่อเป้าหมาย (Kausch 1995)

ขั้นตอนการห่อหุ้มดีเอ็นเอเข้ากับอนุภาคก็เป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพการถ่ายโอนดีเอ็นเอคือ วิธีที่ใช้ห่อหุ้มดีเอ็นเอกับอนุภาคทองด้วยการตกตะกอนดีเอ็นเอในสภาวะที่มีสเปอร์มีดีน (spemidine) และแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) แล้วจึงล้างด้วยแอลกอฮอล์

ชุดอุปกรณ์การยิงดีเอ็นเอเป็นเครื่องมือสำคัญสำหรับงานวิจัยด้านอณูชีววิทยา ในการศึกษาการแสดงออกของยีนในสิ่งมีชีวิตอย่างกว้างขวาง การถ่ายดอนยีนด้วยวิธีนี้ มีความสะดวกแต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายชนิดทั้งด้านชีววิทยาและฟิสิกส์การปรับปัจจัยเหล่านี้ ให้เหมาะสมกับสภาวะการทำงานของดีเอ็นเอที่เราสนใจอย่างเกิดประโยชน์สูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การดำเนินการวิจัย

การออกแบบและการประกอบเครื่องมือ

ทำการเขียนแบบโครงสร้างส่วนประกอบต่างๆของเครื่องมือโดยใช้โปรแกรม autocad และสร้างและประกอบส่วนประกอบของเครื่องมือตามที่ออกแบบ

การเตรียมดีเอ็นเอ

ทำการสกัดพลาสมิดดีเอ็นเอที่มียีนเครื่องหมายจากแบคทีเรียสายพันธุ์ Nava blue โดยใช้ชุดสกัดพลาสมิด GFX MicroPlasmid Prep Kit (Amersham Biosciences)

การตกตะกอนดีเอ็นเอร่วมกับอนุภาคทังสเตนหรือทอง

- การเตรียมอุปกรณ์ และสารเคมี

1. ท่อพลาสติกที่จะใช้สำหรับเคลือบอนุภาคตัดตามความยาวที่ต้องการ และทำให้แห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน
2. เตรียมสารละลายเข้มข้น PVP 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเอธานอลบริสุทธิ์ โดยผสมเบา ๆ จนกระทั่งไม่เป็นเม็ด (ห้ามเขย่าแรง)

- ขั้นตอนการทำงาน

1. นำอนุภาคทังสเตนหรือทองมาใส่ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิตร และเติม spermidine ความเข้มข้น 0.05 ไมโครโมลลาร์ เท่ากับปริมาณของพลาสมิดที่จะใช้
2. ทำการผสมอนุภาคดังกล่าวกับ spermidine ให้เข้ากันโดยใช้วอเท็กซ์ ตามด้วย sonicate 3-5 นาที
3. เติมพลาสมิดดีเอ็นเอ 10 ไมโครกรัม และเขย่าอย่างแรงโดยใช้วอเท็กซ์ 5 วินาที
4. หยด $CaCl_2$ ความเข้มข้น 1 โมลลาร์ที่ละหยดปริมาณเท่ากับ spermidine ผสมให้เข้ากันเบา ๆ และวางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที
5. เมื่ออนุภาคตกตะกอนดีแล้ว นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที 15 วินาที ทิ้งส่วนใสโดยใช้ไปเปตดูดออก
6. เติมเอธานอลบริสุทธิ์ 100 ไมโครลิตร และผสมให้เข้ากับอนุภาคโดยใช้วอเท็กซ์ และปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที 15 วินาที ดูดส่วนใสทิ้งโดยใช้ไปเปตดูดออกเบา ๆ (ทำซ้ำ 3 รอบ)
7. นำสารละลาย PVP เข้มข้นจากข้อ 2) มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และใส่ในหลอดที่ได้จากข้อ 6) ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ทำให้อนุภาคกลับมาเป็นสารละลายแขวนลอยโดยการเคาะหลอดเบา ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. นำท่อพลาสติกจากข้อ 1) มาต่อเข้ากับเข็มฉีดยาโดยใช้ข้อพลาสติก จุ่มปลายหลอดลงในหลอดข้อ 7) ที่มีอนุภาคแขวนลอยอยู่ ใช้เข็มฉีดยาดูดอนุภาคสารแขวนลอยดังกล่าวมาที่ท่อพลาสติกที่ขึงให้ตึง และทิ้งไว้ 5 นาที ให้อนุภาคตกตะกอน
9. เมื่ออนุภาคตกตะกอนในท่อพลาสติกดีแล้ว ใช้เข็มฉีดยาดังกล่าวดูดสารละลายออกจากท่อพลาสติกโดยไม่ให้รบกวนอนุภาคที่ห่อหุ้มดีเอ็นเอ
10. ใช้ก๊าซไนโตรเจนเป่าเบา ๆ นาน 15-30 นาที ทำให้อนุภาคที่ห่อหุ้มดีเอ็นเอซึ่งอยู่ภายในท่อแห้ง (ระวังอย่าให้ก๊าซไนโตรเจนเป่าให้อนุภาคหลุดออกมาจากท่อ)
11. ตัดท่อบริเวณที่มีอนุภาคเคลือบอยู่ภายในความยาว 1.5-2 เซนติเมตร เพื่อไปใช้สำหรับการประกอบเข้ากับเครื่องยิงอนุภาค ควรเก็บท่อที่มีอนุภาคเคลือบในสภาพที่ปราศจากความชื้น เนื่องจากความชื้นมีผลต่อประสิทธิภาพการยิงอนุภาค

การเตรียมตัวอย่างพืช

ลอกเซลล์ชั้นเอพิเดอร์มิสของหอมหัวใหญ่และตัดให้มีขนาดประมาณ 1x1.5 เซนติเมตร นำไปวางบนเพลทอาหารสูตร MS ที่มีวุ้น 6 เปอร์เซ็นต์ และยาปฏิชีวนะ amphotericin B ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ในระหว่างรอการยิงอนุภาคระวังอย่าให้ตัวอย่างพืชแห้ง)

การประกอบเครื่อง

1. ต่อวาล์ว 1 (Solenoid valve 1) เข้ากับชามเบอร์ 1
2. ต่อท่อก๊าซฮีเลียมเข้ากับวาล์ว 1 ของชามเบอร์ 1
3. ต่อท่อ (vacuum pipe) สำหรับดูดอากาศเข้ากับชามเบอร์ 2

การยิงอนุภาคดีเอ็นเอ

1. ใส่ตัวอย่างที่ต้องการยิงลงในชามเบอร์ 2 โดยตั้งระยะห่างของตัวอย่างโดยปรับวัสดุรองตามความเหมาะสม
2. ใส่ท่อห่อหุ้มอนุภาคดีเอ็นเอเข้ากับช่องตรงกลางฝาเปิดของชามเบอร์ 2 ให้แน่น ดังรูปที่ 7
3. ปิดฝาชามเบอร์ 2 และล็อคฝาให้แน่นโดยหักที่จับ (lid handle) ในแนวขวาง ดังรูปที่ 8
4. ต่อสายไฟปั๊มพ์ ปั๊มพ์จะทำงานสังเกตเกจที่บริเวณชามเบอร์ 2 เมื่อความดันเป็น 0 ให้ถอดปลักปั๊มพ์
5. เปิดหัววาล์วถังก๊าซฮีเลียม ให้มีความแรงประมาณ บาร์ หมุนหัววาล์วสำหรับปล่อยก๊าซฮีเลียมออกจากถังไปทาง increase ให้ก๊าซมีความเร็วประมาณ 5-6 บาร์ เครื่องควบคุมความดัน (PPE24) จะตั้งความดันไว้ที่ 5 บาร์ (PPE24 ทนความดันสูงสุดที่ 6.96)
6. ดูที่เครื่อง PPE24 (รูปที่ 5 ตำแหน่งที่ A) เมื่อได้ความดัน 5 บาร์ แล้ว ให้ทำการสับสวิชส์ (รูปที่ 5 ตำแหน่งที่ C) เพื่อยิงอนุภาคผ่านท่อห่อหุ้มอนุภาคดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ถ้าต้องการยิงซ้ำให้ทำซ้ำตั้งแต่ข้อ 1-7 แต่ต้องทำการปรับ (reset) การทำงานของเครื่อง PPE24 โดยกดปุ่มแดง (รูปที่ 5 ตำแหน่งที่ B)

การบ่มตัวอย่างหลังยิง

นำเพลทตัวอย่างที่ได้รับการยิงอนุภาคดีเอ็นเอแล้วมาบ่มเป็นระยะเวลา 18 ถึง 24 ชั่วโมง ในสภาพที่มีแสง

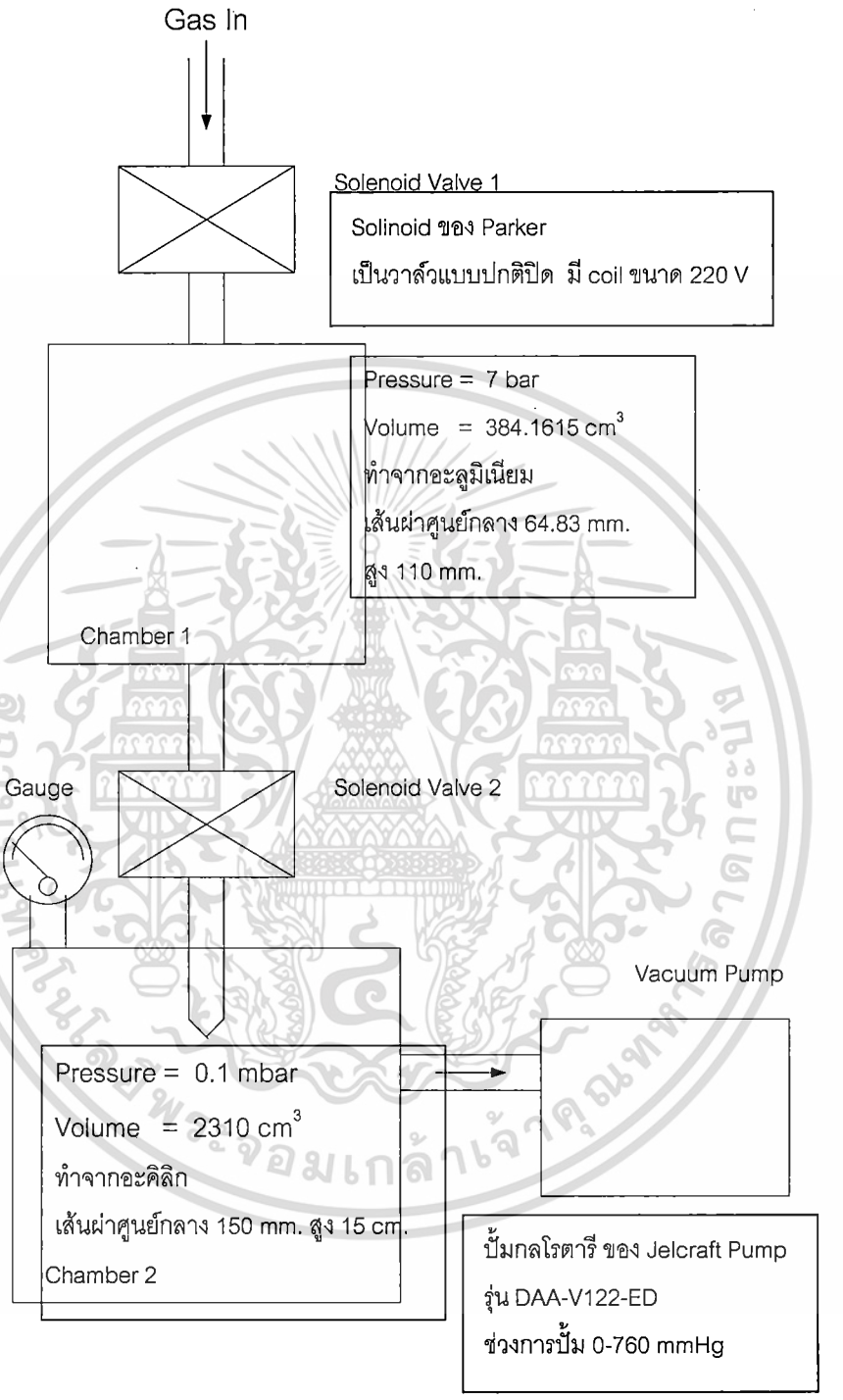
การตรวจสอบผล

การตรวจสอบผลการทดลองทำโดยดูตัวอย่างพืชด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูการกระจายตัวของอนุภาคภายหลังยิง นอกจากนี้ยังอาจตรวจสอบการแสดงออกของยีนเครื่องหมายตามชนิดที่มีอยู่บนพลาสมิดตามวิธีการของ Sompornpailin และคณะ 2002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

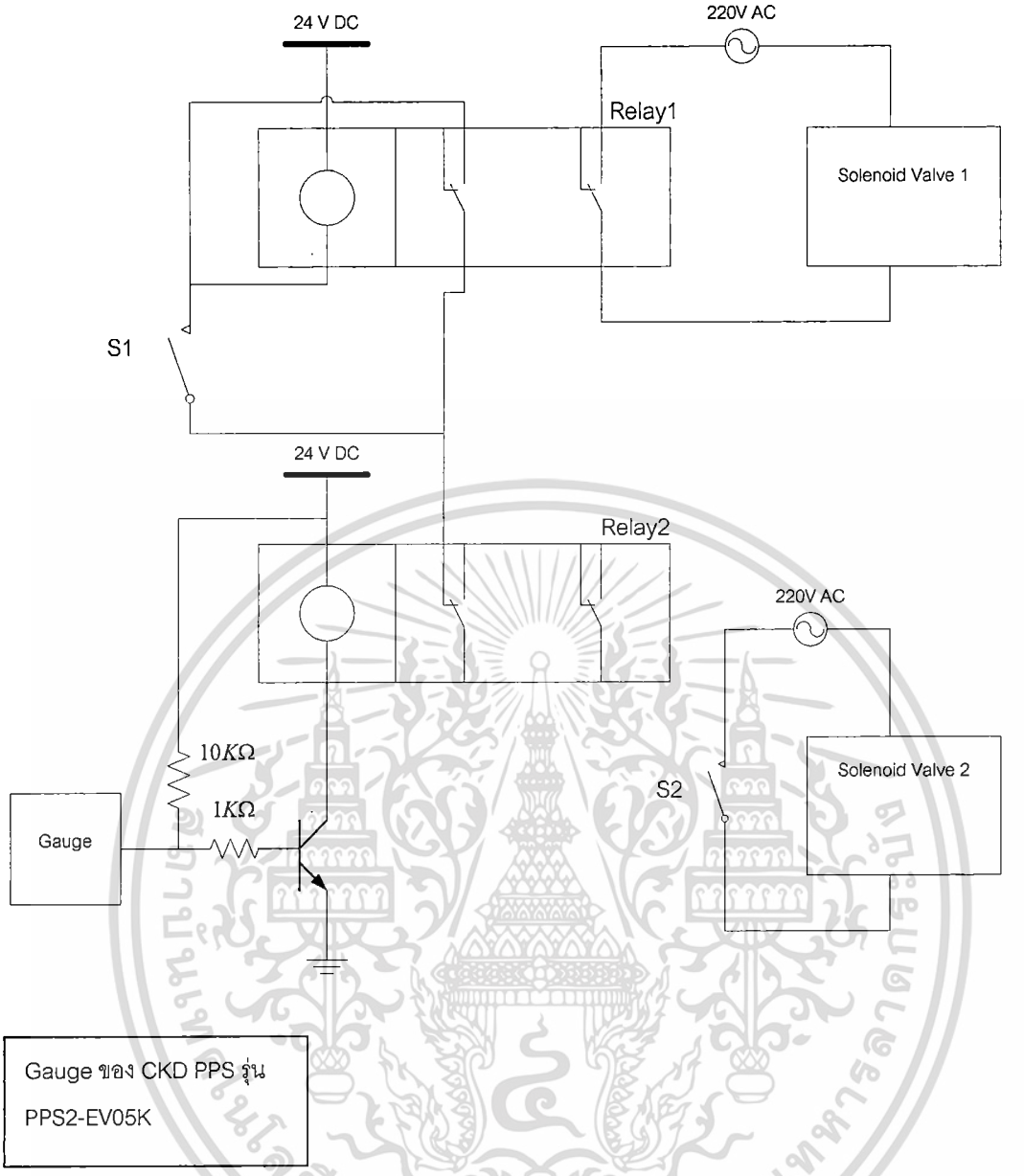
ผลการทดลอง

ผลการออกแบบและประกอบเครื่องมือ



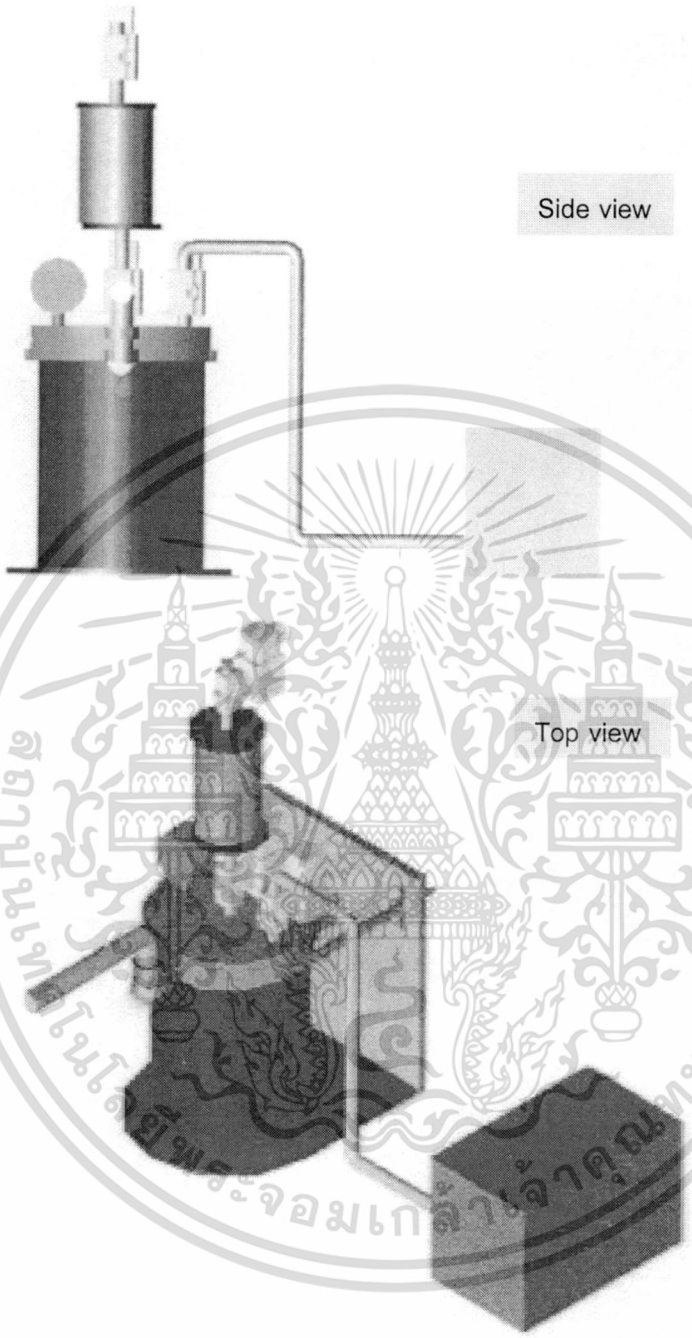
รูปที่ 1 แสดงส่วนประกอบหลักของเครื่องยิงอนุภาคพร้อมรายละเอียดของวัสดุที่ใช้

58936
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



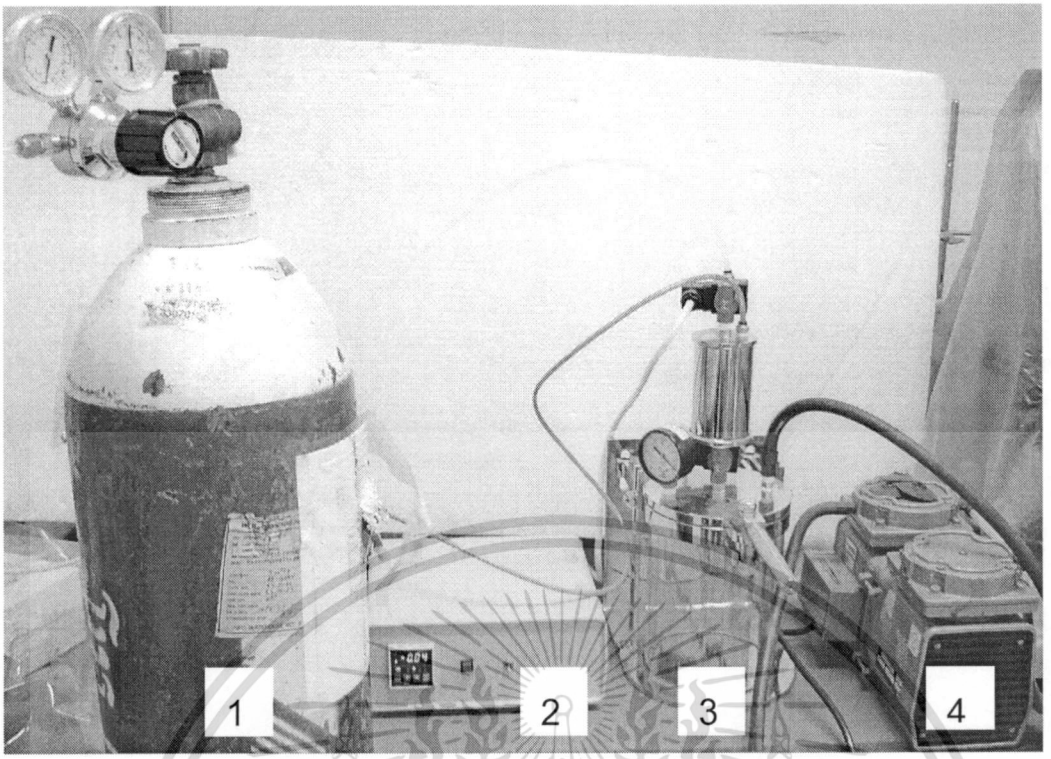
รูปที่ 2 แสดงวงจรไฟฟ้าที่ควบคุมระบบการทำงานขอเครื่องยิงอนุภาคห่อหุ้มดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

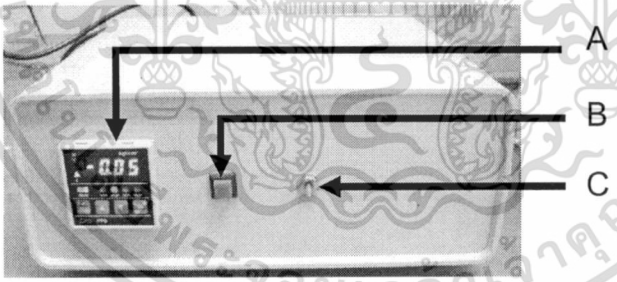


รูปที่ 3 ผลการเขียนแบบโครงสร้างส่วนประกอบต่างๆของเครื่องมือโดยใช้โปรแกรม autocad

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 แสดงส่วนประกอบของเครื่องยิงอนุภาคดีเอ็นเอทั้งชุด 1: ถังก๊าซฮีเลียมพร้อมวาล์วควบคุม 2 : เครื่องความคุมความดัน 3: ชามเบอร์สำหรับยิงอนุภาค 4: ปั๊มพ์



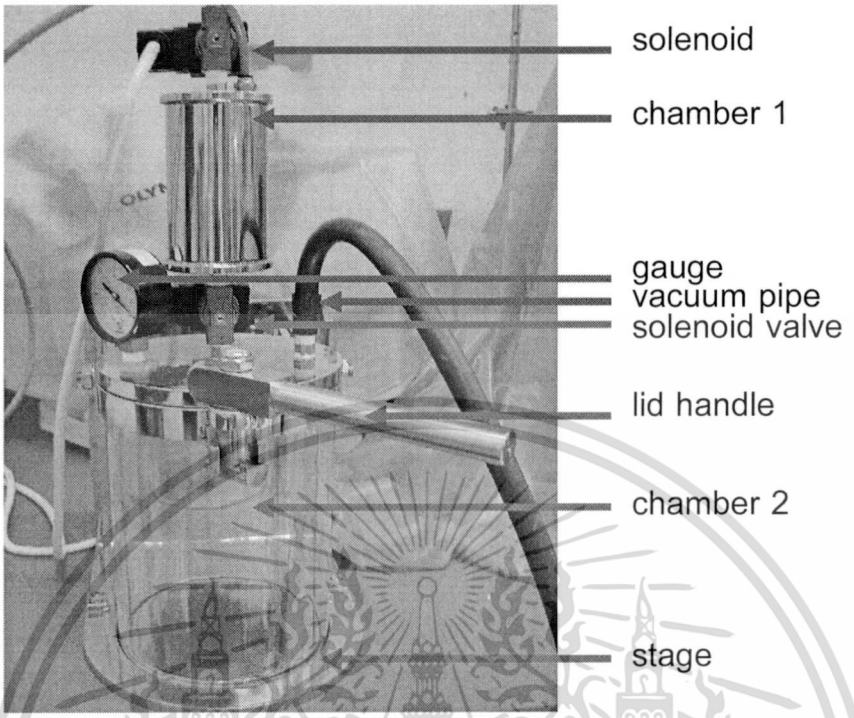
รูปที่ 5 แสดงส่วนประกอบและปุ่มปฏิบัติงานของเครื่อง PPE24

A : แผงควบคุมความดันของก๊าซฮีเลียม

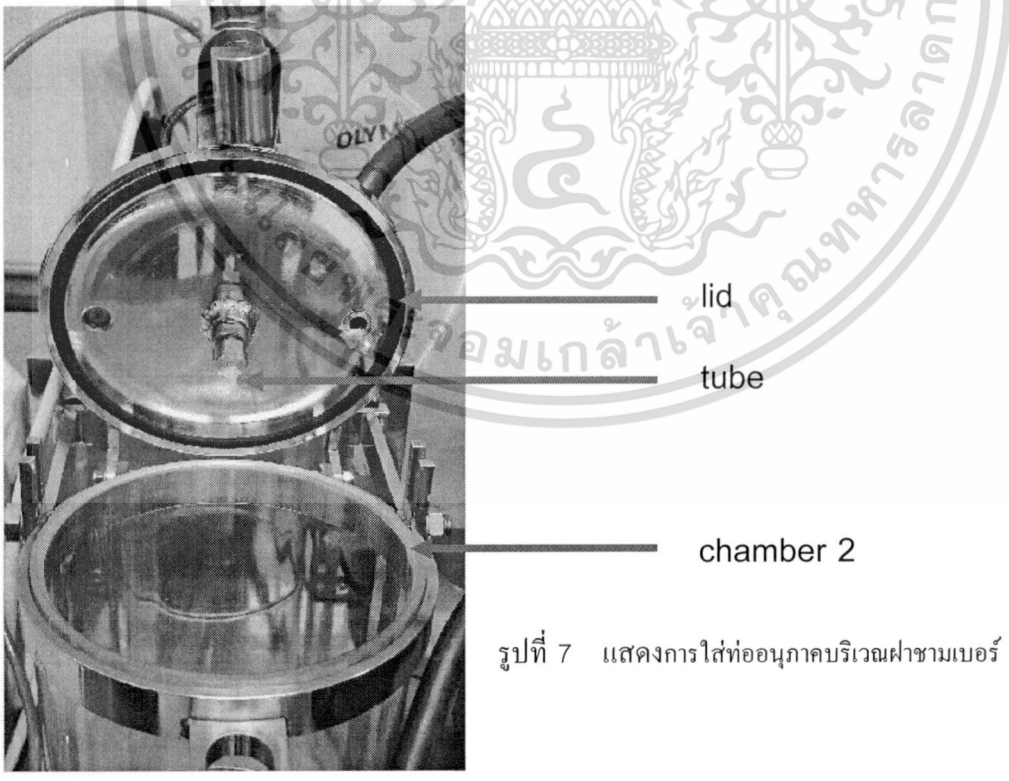
B : ปุ่มแดง (reset)

C : สวิสซ์ควบคุมการปล่อยก๊าซยิงอนุภาค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

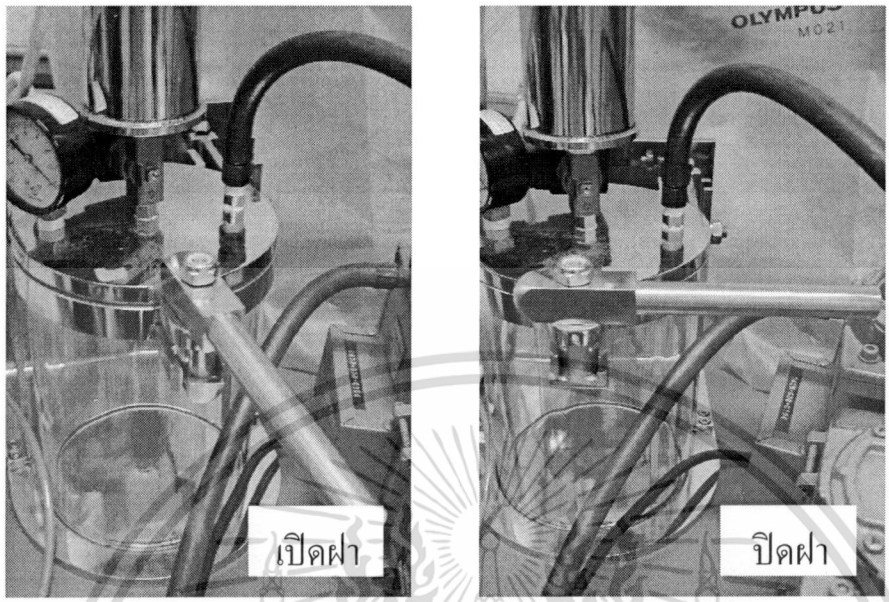


รูปที่ 6 แสดงส่วนประกอบของชามเบอร์สำหรับยิงอนุภาค

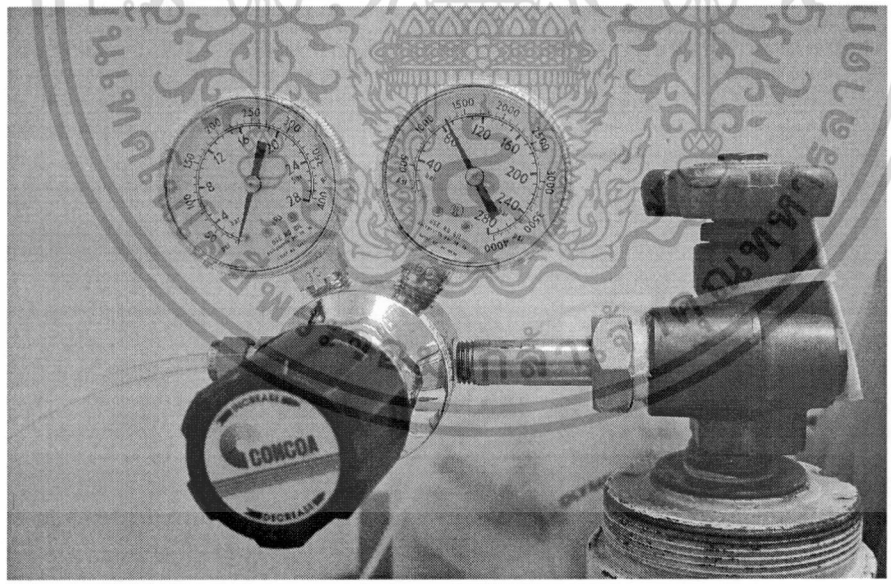


รูปที่ 7 แสดงการใส่ท่ออนุภาคบริเวณฝาชามเบอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



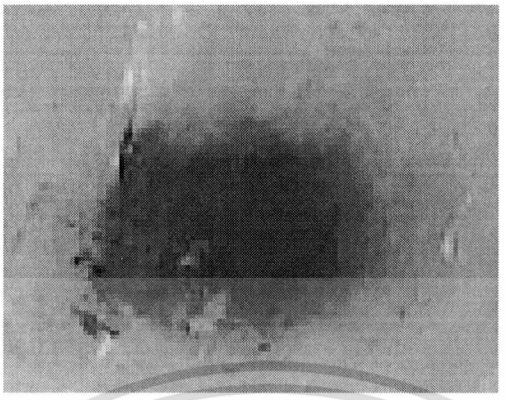
รูปที่ 8 แสดงการเปิด/ปิดฝาชามเบอร์หลัก



รูปที่ 9 แสดงการหัววาล์วสำหรับควบคุมการเปิดก๊าซจากถังฮีเลียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการการยิงอนุภาคห่อหุ้มดีเอ็นเอบนเซลล์เอพิเดอร์มิสของเยื่อหอมแสดงดังรูปที่ 10 จะเห็นได้ว่าการกระจายตัวของอนุภาคน้อยเกินไป



รูปที่10 แสดงผลการยิงอนุภาคบนเซลล์หัวหอม

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการศึกษาพัฒนาการสร้างชุดเครื่องมือถ่ายโอนดีเอ็นเอแบบยิงอนุภาคห่อหุ้มดีเอ็นเอได้ทำการออกแบบให้มีระบบการทำงานที่สะดวกขึ้น ทำให้สามารถใช้ระยะเวลาในการยิงตัวอย่างที่สั้นลงกว่าเครื่องมือที่มีอยู่ แต่การควบคุมความดันและการปล่อยความดันด้วยระบบไฟฟ้าทำให้มีข้อจำกัดในการเลือกวาล์วที่ใช้ในการทำงาน คือโซลีนอยล์วาล์วเท่านั้น จากการทดสอบพบว่าระบบการปิดเปิดของวาล์วชนิดนี้ช้าเกินไป มีผลให้แรงดันในการยิงค่อนข้างต่ำ การกระจายตัวของอนุภาคที่ได้จึงน้อยเกินไปทั้งนี้ได้ทำการปรับระยะและความยาวของท่อที่ใช้ในการยิง แต่ประสิทธิภาพไม่มีความแตกต่างกันมากนัก ดังนั้นจึงควรมีการปรับปรุงประสิทธิภาพของเครื่องมือโดยหาระบบการเปิดปิดวาล์วระบบอื่นที่มีความเหมาะสมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. Armaleo, D., Ye, G. N, Shark, K.B.,Sanford,.J.C. and Johnston, S .A. ,Curr. Genet' 17, 97-103 (1990).

2. Johnston ,S.A., Anziano, P.Q., Shark, K., Sanford,J.C. and Butow, R. A. ,Science 240, 1538-1541(1998).

3. Klein, T, M. ,Fromm, M. ,Weissinger, A.,Tomes ,D. ,Schssf ,S. ,Sletten, M.,and Sanford,J. C., Proc. Nat. Acad. Sci.USA,85,4305-4309 (1988).

4. Klein, T. M., Wolf, E.d., Wu, R.,Sanford, J. C., Nature 327,70-73(1987).

5. MaCabe,D.E.,Sswain,W.F, Martinell,B.J. and Christou, P., Bio/Technology 6,923-926 (1988).

6. Qin.P., Ziegelhoffer, P.,Sun,J. And Yang, N.S., Gene Therapy,3,262-268(1996).

7. Shark,K.B.,Smith,F.D.,Harpending,P.R.,Rasmussen.J.L. and Sanford,J.C.,Appl. Environ. Microbiol., 57,480-485(1991).

8. Smith, F.D., Harpending, P. R., and Sanford, J. C., J.Gen Microbiol., 138,239-248(1992).

9. Williams, R. S .,Johnston, S. A., Riedy, M.,Riedy ,M., DeVit, M. J.,McElligott, S. G. and Sanford, J. C., Proc.Natl. Acad. sci USA, 88,2726-2730(1991).

10. Yang, N. S .,Brandsma, J. R. ,Roberts,B.,Matinell,B. And McCabe,D., Proc. Nalt. Acad. Sci USA,87,9568-9572(1990).

11. Zelenin, A. V.,Titomirov A.V. ,FEBS Lett.,244,65-67(1989).

12. Finer, J. J., Vain, P., Jones, M.W. and McMullen, M.D.(1992). Development of the particleinflow gun for DNA delivery to plant. Plant Cell Rep 11,323-328.

13. Sanford, J. C., Smith, F. D. and Russell, J. A. (1993). Optimization of the biolistic processfor different biological application. Methods of Enzymology 217, 483-509.

14. Sompornpailin, K., Makita, Y., Yamazaki M. And Saito K. Plant Mol. Bopl. 50:485- 495 (2002).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้