

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5080272

ชื่อโครงการ: อนุภาคนาโนโคโตซาน-เอนไซม์เพื่อการเพิ่มขนาดสัญญาณที่วัดได้ในงานด้านดีเอ็นเอเซนเซอร์

ชื่อนักวิจัย: ดร. ปาริยา ญ นคร

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

E-mail Address : pariya@tu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 กรกฎาคม 2550 – 1 กรกฎาคม 2552

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตรึงเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (Alkaline phosphatase หรือ ALP) กับอนุภาคนาโนโคโตซาน เพื่อนำไปใช้ในการตรวจวัด พร้อมกับเป็นการเพิ่มสัญญาณที่วัดได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการวัดสารปริมาณน้อยๆ ซึ่งอาศัยหลักการขยายสัญญาณที่ได้จากปฏิกิริยาของสารที่ต้องการวัดกับสารที่จับกันอย่างจำเพาะทำให้ความไวของหัวตรวจวัดที่ได้นี้สูงขึ้น การเตรียมอนุภาคนาโนโคโตซานโดยกระบวนการทางเคมีแบบวิธีเจลโอออดิ จะได้อัลลอยด์ที่มีลักษณะสีขาวขุ่น ที่มีขนาดของอนุภาคเท่ากับ 67 นาโนเมตร ด้วยการวัดผ่านกล้อง TEM จากนั้นนำอนุภาคนาโนโคโตซานที่ได้มาทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรึงกับ ALP ที่สภาวะค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อุณหภูมิ และความเข้มข้นของ ALP ต่างๆ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ ที่ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของ ALP เท่ากับ 11 นาโนกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาค่ากิจกรรมของเอนไซม์ ALP บนอนุภาคนาโนโคโตซาน – ALP ที่ได้ พบว่า มีค่ากิจกรรมเท่ากับ 0.014 ± 4.028 Units/ml enzyme ในขณะที่เสถียรภาพของเอนไซม์ ALP ที่ผ่านการตรึงกับอนุภาคนาโนโคโตซานได้ถูกทดสอบด้วย ซึ่งจากผลการศึกษาข้างต้นได้นำอนุภาคนาโนโคโตซาน – ALP ที่ได้มาสร้างหัววัดเซนเซอร์ โดยเลือกใช้การตรวจวัด DNA แทนการใช้ antibody เนื่องจากมีราคาสูงมาก แต่เนื่องด้วยโดยใช้อนุภาคนาโนโคโตซาน – ALP ให้เป็นอุปกรณ์ที่มีความไวในการตรวจวัดสูงต่อไป ซึ่งได้ใช้น้ำ *dnaK* primer เป็นดีเอ็นเอต้นแบบเพื่อใช้ศึกษานี้ สัญญาณที่วัดได้ต่ำสุดที่ 1 ng/ μ l (4.33×10^{-20} M) อันสามารถเป็นต้นแบบของการพัฒนาเซนเซอร์ที่สัญญาณตรวจวัดดีขึ้น นอกจากนี้ได้หาค่าคุณลักษณะต่างๆ เบื้องต้นของ biosensor ที่ได้ คือ lower detection limit, response time , sensitivity และ stability อีกด้วย

คำหลัก : อนุภาคนาโนโคโตซาน เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส ไปโอเซนเซอร์ เพิ่มขนาดสัญญาณตรวจวัด ดีเอ็นเอเซนเซอร์

Abstract

Project Code : MRG5080272

Project Title : Enzyme immobilized Chitosan Nanoparticle for Detected Signal Amplification in DNA sensor

Investigator : Dr. Pariya Na Nakorn

Project Period : July 2, 2007 – July 1, 2009

Abstract

This research has an aim objective to study enzyme alkaline phosphatase (ALP) immobilization with chitosan nanoparticles for fabricating sensor electrode applications. From a preparation of chitosan nanoparticles by chemical process via ionic gelation method obtained colloid solution, which was 67 nm in size by TEM analysis. Then the chitosan nanoparticles were used to study an optimal condition for ALP immobilization with a variation of pH, temperature and ALP initial concentration. The optimal condition was using phosphate buffer pH 6, 25 °C and 11 ng Protein/ml. The immobilized ALP activity had 0.014 ± 4.028 units/ml ALP, which reduced when compared with free enzyme. However the chitosan nanoparticles could improve the ALP stability via acting as a protector. When using DNA template, *dnaK* primer, as a model to investigate the detected signal amplification, this detection has been amplified by revealing the typical results with improving signal detection at 1 ng / μ l. This will be using as a model for any biosensor in order to amplify higher detected signals than the typical one. Moreover the lower detection limit, response time, sensitivity and usage stability were also examined.

Keywords: chitosan nanoparticles; alkaline phosphatase; DNA sensor; signal improving