

การเก็บรักษาดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ เพื่อการวินิจฉัยทางชีวโมเลกุล

กิ่งกาญจน์ รักษาณิ และ ตริวัฒน์ วัฒนะโชคชัย

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400

บทคัดย่อ DNA และ RNA เป็นรหัสข้อมูลทางพันธุกรรม มีบทบาทสำคัญในการควบคุมและถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิต สารพันธุกรรมเหล่านี้อาจเสื่อมสลายได้จากปัจจัยแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น รังสียูวี เอนไซม์ DNase และ RNase ที่ปนเปื้อนในวัสดุและอุปกรณ์ของห้องปฏิบัติการ การเสื่อมสลายของ DNA และ RNA ส่งผลกระทบต่อกระบวนการตรวจวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุล การยับยั้งการเสื่อมสลายของสารพันธุกรรมสามารถทำได้ผ่านกระบวนการทางเคมี เช่น การใช้สารต้านอนุมูลอิสระ การใช้สารคีเลต การใช้สารควบคุมความเป็นกรด-ด่าง กระบวนการทางกายภาพ เช่น การเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และหลีกเลี่ยงแสงยูวี และกระบวนการทางชีวภาพ เช่น การใช้วัสดุอุปกรณ์ที่ปราศจากเชื้อ และการระงับการทำงานของจุลินทรีย์ กระบวนการเหล่านี้ช่วยรักษาคุณภาพสารพันธุกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ เหมาะสมสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในการเก็บรักษา DNA RNA และตัวอย่างทางชีวภาพ สำหรับการตรวจวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุลของห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

คำสำคัญ: สารพันธุกรรม, DNA, RNA, การเสื่อมสลายของสารพันธุกรรม, การเก็บรักษาสารพันธุกรรม

Corresponding author E-mail: treevirusrama@gmail.com

Received: 3 February 2025

Revised: 25 July 2025

Accepted: 29 July 2025

บทนำ

ดีเอ็นเอ (Deoxyribonucleic acid, DNA) และอาร์เอ็นเอ (Ribonucleic acid, RNA) เป็นสารพันธุกรรมซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุล (Biomolecule) ที่ควบคุมลักษณะทางพันธุกรรม DNA บรรจุข้อมูลทั้งหมดที่จำเป็นต่อการดำรงอยู่ของสิ่งมีชีวิต โดยทำหน้าที่จำลองตัวเอง (replicate) ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมและการเกิดวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต⁽¹⁾ DNA เป็นโมเลกุลที่มีความเสถียรสูงเมื่อเทียบกับ RNA และโปรตีน ทำให้สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมและปัจจัยที่รุนแรงต่อการย่อยสลายได้เป็นเวลานาน⁽²⁾ การย่อยสลายของ DNA เป็นกระบวนการที่มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา⁽²⁾ โดยได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมและปัจจัยต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น รังสีอัลตราไวโอเลต⁽²⁾ และระยะเวลา⁽³⁾ อย่างไรก็ตาม ช่วงเวลาหลังการตาย (post-mortem) ของสิ่งมีชีวิตก็มีผลต่อความเร็วในการสลายของ DNA เช่นกัน เนื่องจากสภาพแวดล้อมและปฏิกิริยาทางเคมีเกิดขึ้นในเซลล์หลังการตายมีความแตกต่างกันในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด⁽²⁾ การรักษาสารพันธุกรรมก่อนการตรวจวิเคราะห์จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการวิจัยและการวินิจฉัยทางการแพทย์⁽⁴⁾

แม้ว่าการย่อยสลายของ DNA และ RNA สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งในสิ่งมีชีวิตและสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้ว แต่ปัจจัยที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลาย DNA ล้วนแตกต่างกันในแต่ละกรณี⁽²⁾ ความคงทนของ DNA และ RNA ต่อการเสื่อมสลายจึงขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ โดยเฉพาะปัจจัยจากภายนอก เช่น อุณหภูมิ ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถช่วยในการรักษาสภาพและการเสื่อมสลายของสารพันธุกรรม หากเก็บรักษา DNA และ RNA ไว้ในช่วงอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมจะทำให้เกิดการเสื่อมสลาย⁽⁵⁾ ผ่านกลไกต่าง ๆ เช่น การไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ออกซิเดชัน (oxidation) และดีพิวรีนชัน (depurination) ส่งผลต่อความสมบูรณ์ของโครงสร้างของ DNA ซึ่งเป็นหนึ่งในกลไกความเสียหายของ DNA ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติและพบได้บ่อยที่สุดในเซลล์⁽²⁾

DNA-RNA hybrid เป็นโครงสร้างของกรดนิวคลีอิก ประกอบด้วย สาย DNA และ RNA ที่จับคู่กัน

ด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างเบสคู่สม (complementary base) เป็นโครงสร้างที่สำคัญของกระบวนการทางชีวภาพ⁽⁶⁾ เอนไซม์ ribonuclease H (RNase H) เป็น endonuclease ประเภทหนึ่งที่ทำหน้าที่ย่อยสลาย RNA ใน DNA-RNA hybrid ให้กลายเป็นโมโนไรโบนิวคลีโอไทด์ (mono-ribonucleotide) และโอลิโกไรโบนิวคลีโอไทด์ (oligo-ribonucleotide) ที่มีปลาย 5'-phosphate ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการตรวจวิเคราะห์ เช่น นำมาใช้ในปฏิกิริยา cDNA synthesis สำหรับการทำ RT-PCR หากมีการปนเปื้อน RNase H ในปฏิกิริยา cDNA synthesis จะทำให้ RNA ต้นแบบถูกย่อยสลาย ส่งผลให้กระบวนการ reverse transcription เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ขาดความต่อเนื่องหรือหยุดกลางคัน ทำให้ได้ cDNA ที่มีขนาดสั้น มีลำดับเบสไม่ครบหรือขาดหายไป ทำให้ไม่สามารถตรวจวัดผลทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณได้⁽⁶⁾ ส่งผลกระทบต่อการศึกษาและกระบวนการตรวจวิเคราะห์ทางด้านชีวโมเลกุล (Molecular Biology) การเก็บรักษาตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ DNA และ RNA ในอุณหภูมิต่ำถือเป็นปัจจัยสำคัญในการรักษาคุณภาพข้อมูลทางพันธุกรรม อย่างไรก็ตามการเก็บรักษา DNA และ RNA ในอุณหภูมิต่ำในบางพื้นที่อาจมีข้อจำกัดด้านทรัพยากรจึงไม่สามารถดำเนินการเก็บรักษาได้⁽³⁾ ด้วยเหตุนี้จึงได้ทำการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับการรักษาสารพันธุกรรม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการป้องกันการเสื่อมสลายของ DNA และ RNA ให้มีทั้งคุณภาพและปริมาณที่เพียงพอต่อกระบวนการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

วิธีการสืบค้น

ในการจัดทำบทความนี้ได้ดำเนินการสืบค้นข้อมูลจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ ฐานข้อมูลทางวิชาการ เช่น PubMed และ SpringerLink รวมทั้งเอกสารงานวิจัย บทความ สื่อสิ่งพิมพ์ และแหล่งข้อมูลทางวิชาการอื่น ๆ จาก Google Scholar โดยใช้คำสำคัญในการค้นหา ได้แก่ Deoxyribonucleic acid (DNA), Ribonucleic acid (RNA), DNA and RNA degradation, DNA and RNA storage, Preservation of nucleic acid และ DNA preservation methods เป็นต้น

เนื้อหา

การเสื่อมสลายของสารพันธุกรรม

การเสื่อมสลายของ DNA และ RNA มีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อม เวลา และปัจจัยต่างๆ⁽³⁾ เช่น ความชื้น⁽²⁾ อุณหภูมิ รังสีอัลตราไวโอเลต^(2,5) การสูญเสียเบสพิวรีน (Depurination) ใน DNA เป็นหนึ่งในรูปแบบความเสียหายของ DNA ที่พบบ่อยที่สุดในกระบวนการของสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) และในการทดลองทางห้องปฏิบัติการ (*in vitro*)⁽⁷⁾ ผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ออกซิเดชัน (Oxidation) และ Depurination⁽²⁾

การสูญเสียเบสพิวรีนจากกระบวนการ Depurination เกิดจากพันธะ Glycosidic ของสาย DNA ถูกทำลายด้วยกระบวนการ Hydrolysis⁽⁶⁾ เหลือเพียงโครงสร้างของน้ำตาลและหมู่ฟอสเฟต การขาดหายไปของเบสพิวรีนหรือที่เรียกว่า Apurinic site และการขาดหายไปของเบส pyrimidine หรือที่เรียกว่า Apyrimidinic site บริเวณที่เบสหายไปบนสาย DNA หรือที่เรียกว่า บริเวณ AP site⁽⁹⁾ เมื่อไม่มีเบสเชื่อมต่ออยู่จะทำให้พันธะ Phosphodiester ภายในแกนกลางของ DNA ถูกทำลาย ทำให้สาย DNA ขาดและหลุดออกจากกัน⁽²⁾ การสูญเสียเบส ได้แก่ adenine หรือ guanine ซึ่งใน DNA มีแนวโน้มการเสื่อมสลายมากกว่า RNA เป็นอย่างมาก ส่วนในการสูญเสียเบส pyrimidine ได้แก่ cytosine และ thymine เกิดขึ้นด้วยกลไกที่คล้ายคลึงกันแต่มีอัตราที่ต่ำกว่า⁽⁸⁾

นอกจากนี้ในการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับสถานะต่างๆ ของเซลล์ พบว่าเซลล์มีการถอดรหัส RNA (RNA transcription) มากกว่าปริมาณ RNA ที่มีอยู่ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีกระบวนการย่อยสลาย RNA (RNA degradation) เกิดขึ้น โดยทั่วไปแล้ว RNA จะถูกย่อยสลายเมื่อสิ้นสุดอายุการใช้งาน แม้ว่ากระบวนการย่อยสลาย RNA จะมีอยู่ในเซลล์และมีความซับซ้อนอย่างมาก แต่กระบวนการย่อยสลาย RNA ของแบคทีเรีย อาร์เคีย (Archaea) และ Eukaryote ก็มีหลักการพื้นฐานคล้ายคลึงกัน⁽¹⁰⁾

การยับยั้งการเสื่อมสลายของสารพันธุกรรม

การเกิด Depurination ใน DNA และ RNA เป็นสาเหตุของการเสื่อมสลายของสารพันธุกรรมที่พบบ่อยที่สุด การยับยั้งกระบวนการเสื่อมสลายของสารพันธุกรรมนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับการนำสารพันธุกรรมไปใช้ในงานทางชีวโมเลกุลและทางการแพทย์⁽⁷⁾ การรักษาคุณภาพของสารพันธุกรรมต้องใชการผสมผสานระหว่างกระบวนการทางเคมี กายภาพ และชีวภาพเพื่อป้องกันการเสื่อมสลายของสารพันธุกรรมจากปัจจัยต่างๆ ได้อย่างครอบคลุม ซึ่งกระบวนการป้องกันการเสื่อมสลาย แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ กระบวนการทางเคมี กระบวนการทางฟิสิกส์ และกระบวนการทางชีวภาพ ดังนี้

กระบวนการทางเคมี

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) เป็นสารประกอบที่ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidation เป็นปฏิกิริยาเคมีที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ (free radical) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นจะทำให้สารประกอบอินทรีย์เสื่อมสลาย ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น α -tocopherol, ascorbic acid, carotenes, glutathione, lipoic acid, ubiquinol, uric acid⁽¹¹⁾ ที่พบในเซลล์มนุษย์ และ spermine⁽⁷⁾ เป็นต้น

สารคีเลต (Chelating agent) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการจับกับไอออนของโลหะ เช่น แมกนีเซียม (magnesium; Mg 2+) และแคลเซียม (calcium; Ca 2+) ซึ่งแมกนีเซียมจัดเป็น cofactor ที่สำคัญสำหรับเอนไซม์ DNase และ RNase ในการย่อยสลาย DNA และ RNA แม้ DNA จะได้รับการปกป้องในนิวเคลียส แต่เมื่อผ่านกระบวนการสกัดสารพันธุกรรมก็จะมีโอกาสสัมผัสกับเอนไซม์ nuclease ที่ถูกกระตุ้นด้วยไอออนโลหะดังกล่าว ทำให้ DNA ถูกย่อยสลาย นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อกระบวนการตรวจวิเคราะห์ในหลายขั้นตอนตั้งแต่การสกัดไปจนถึงปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction; PCR⁽¹²⁾ สารคีเลตจึงนิยมนำมาใช้ป้องกันการเสื่อมสภาพของสารพันธุกรรม โดยจะไปแย่งจับ

กับโลหะที่เป็น cofactor ของเอนไซม์ เช่น chitosan, citrate, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), ethylene glycol-bis(2-aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid (EGTA)⁽¹³⁾ เป็นต้น

สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme inhibitor) โดยทั่วไปใช้สารซักฟอก (detergent) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ มีคุณสมบัติในการทำละลายเยื่อหุ้มเซลล์เยื่อหุ้มนิวเคลียส ทำให้เอนไซม์สูญเสียโครงสร้างและการทำงาน เช่น sodium lauryl sulfate (SDS)⁽¹⁴⁾ นอกจากนี้ยังมีสารเคมีอื่นๆ ที่นำมาใช้ร่วมกันในการทำลายโครงสร้างที่ห่อหุ้มสารพันธุกรรม และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เช่น dithiothreitol (DTT) ทำลายพันธะ disulfide ทำให้โครงสร้างของเอนไซม์และโปรตีนเสียหาย⁽¹⁵⁾ เป็นต้น

สารละลาย Buffer ควบคุมความเป็นกรด-ด่าง เป็นสารละลายที่ใช้รักษาความสมดุลของค่า pH นิยมใช้ในงานทางด้านชีวโมเลกุล เช่น Tris-acetate-EDTA

(TAE) buffer และ Tris-borate-EDTA (TBE) buffer ใช้ในงาน gel-electrophoresis ซึ่งมีส่วนประกอบของ Tris base หรือ Tris (hydroxymethyl) aminomethane ที่ช่วยควบคุม pH ป้องกันการเสื่อมสลายของ DNA และ RNA เนื่องจากการเปลี่ยนแปลง pH สามารถเร่งปฏิกิริยา hydrolysis ทำให้พันธะ phosphodiester ในสาย DNA หรือ RNA เกิดการแตกหักและเสื่อมสลายได้ โดยช่วง pH ที่เหมาะสมของ Tris อยู่ที่ pH 7-9 การใช้ Tris นอกจากจะช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยสลายสารพันธุกรรมได้โดยตรงแล้ว ยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ผ่านกระบวนการ chelation ไอออนของโลหะได้อีกด้วย⁽¹⁶⁾

การรักษาคุณภาพสารพันธุกรรมในห้องปฏิบัติการนิยมใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีส่วนประกอบของสารต่างๆ เพื่อป้องกันการเสื่อมสลายของ DNA และ RNA ในกระบวนการสกัดสารพันธุกรรม กระบวนการตรวจวิเคราะห์ และการรักษาสารพันธุกรรมไว้งานในภายหลัง ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สารละลายสำหรับใช้ในการรักษาคุณภาพ DNA และ RNA ในกระบวนการต่าง ๆ

สารละลาย	ส่วนประกอบและหน้าที่	การนำไปใช้
Cetyltrimethylammonium Bromide (CTAB) Buffer ⁽¹⁷⁾	ทำลายเมมเบรนของเซลล์และช่วยในการตกตะกอน DNA และ RNA	ใช้ในการสกัด DNA จากแบคทีเรียและเชื้อรา
dimethyl sulfoxide, disodium EDTA, และ Saturated NaCl (DESS) Buffer ⁽¹⁸⁾	dimethyl sulfoxide (DMSO) ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNase ป้องกันการเกิดปฏิกิริยา oxidation, disodium EDTA จับกับไอออนของโลหะ, NaCl รักษาความเข้มข้นของไอออนในสารละลาย	เหมาะสำหรับใช้เก็บรักษาตัวอย่างเนื้อเยื่อ สารคัดหลั่ง แบคทีเรีย ใช้เก็บตัวอย่างในพื้นที่ห่างไกลที่ไม่สามารถจัดเก็บในสภาวะแช่เย็นได้
Diethylpyrocarbonate (DEPC)-Treated Water ⁽¹⁹⁾	ยับยั้งเอนไซม์ ribonuclease	ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง ยับยั้งการย่อยสลาย RNA
DNA/RNA Defend (DRD) หรือ DNA/RNA Defend Pro (DRDP) ⁽²⁰⁾	guanidinium thiocyanate ยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค และการทำงานของ DNase และ RNase, mucolytic agent สำหรับละลายสารที่มีความข้นหนืด	buffer สำหรับเก็บและขนส่งตัวอย่าง โดยเฉพาะสามารถยับยั้ง (inactivation) เชื้อก่อโรค ป้องกันการเสื่อมสภาพ DNA และ RNA
Formamide and EDTA (FAE) Solution ⁽²¹⁾	formamide ใช้ทำลายพันธะไฮโดรเจนในการเตรียม DNA และ RNA สายเดี่ยว, EDTA จับกับไอออนของโลหะ	ใช้ในการจัดสภาพโครงสร้าง DNA และ RNA ให้เป็นสายเดี่ยว
Forensic DNA Laboratory (FDL) Buffer ⁽⁴⁾	FDL Buffer อาจมีส่วนประกอบของ Tris-HCl ปกป้อง DNA จากการเปลี่ยนแปลง pH, EDTA จับกับไอออนโลหะ, detergents ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และโปรตีน, proteinase K ย่อยโปรตีนในตัวอย่าง	การเก็บรักษาตัวอย่างทางนิติวิทยาศาสตร์ เช่น เลือด น้ำลาย เส้นผม หรือสารคัดหลั่งอื่นๆ เพื่อรักษาคุณภาพของ DNA

ตารางที่ 1 สารละลายสำหรับการรักษาคุณภาพ DNA และ RNA ในกระบวนการต่าง ๆ (ต่อ)

สารละลาย	ส่วนประกอบและหน้าที่	การนำไปใช้
Milli-Q PF Plus Water ⁽²²⁾	น้ำบริสุทธิ์ที่ไม่มีกรปนเปื้อนของ RNase ใช้รักษาสภาพ RNA	ใช้ในการเตรียม RNA สำหรับงานทางด้านชีวโมเลกุล
Nucleic Acid Preservation (NAP) Buffer ⁽²³⁾	ammonium sulfate เพิ่มความเข้มข้นของเกลือ ลดกิจกรรม DNase และ RNase, sodium citrate ควบคุมสมดุลไอออนิกในสารละลาย รักษาระดับ pH 5.2, EDTA จับกับไอออนของโลหะ	ใช้ในการเก็บรักษากรดนิวคลีอิกในอุณหภูมิต่ำ ช่วยรักษาความคงตัวของ DNA และ RNA ในการแช่แข็งระยะยาว
Phosphate Buffer Saline (PBS) ⁽²⁴⁾	phosphate salts: รักษา pH 7.4, NaCl รักษาความเข้มข้นของเกลือ (osmolarity) ให้เหมาะสม, KCl ช่วยรักษาสสมดุลไอออนในสารละลาย	ใช้ล้างเซลล์ เก็บรักษาตัวอย่างภายใต้อุณหภูมิที่เย็นจัด เพื่อรักษาความสมบูรณ์ของ DNA และ RNA
RNA Later Solution ^(25,26)	เป็นสารละลายที่ซึมผ่านเนื้อเยื่อได้อย่างรวดเร็ว มีหน้าที่รักษาเสถียรภาพและเก็บรักษา RNA	จัดเก็บตัวอย่างได้ในระยะยาวที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดยไม่กระทบต่อความสมบูรณ์ของ RNA
Tris-EDTA (TE) buffer ⁽²⁷⁾	Tris รักษาความเป็นกลางของ pH, EDTA ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNase ที่ย่อยสลาย DNA โดยแย่งจับกับไอออนของโลหะ	ใช้สำหรับเก็บรักษา DNA และ RNA ให้มีความเสถียร
Tris-EDTA- NaCl-Tween 20 (TENT) buffer ⁽²⁸⁾	Tris ควบคุม pH, EDTA จับกับไอออนของโลหะ, NaCl รักษาสมดุลออสโมซิส และโครงสร้าง DNA และ RNA, Tween 20 สารลดแรงตึงผิว ลดการยึดจับที่ไม่จำเป็น	การเก็บรักษาและคงสภาพตัวอย่าง และ DNA เหมาะสำหรับสถานที่ทางไกล มีอุณหภูมิและความชื้นที่รุนแรง หรือไม่มีตู้เย็น
Tris-HCl Buffer ⁽²⁹⁾	Tris ควบคุม pH, HCl ช่วยรักษาสภาพแวดล้อมไอออนิกที่เหมาะสม	ใช้เป็นตัวทำละลายในการเตรียม DNA และ RNA ในหลอดทดลอง
Tris-Acetate-EDTA (TAE) Buffer ⁽³⁰⁾	Tris ควบคุม pH, acetate นำไฟฟ้า, EDTA ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยสลาย DNA	สำหรับ Gel-electrophoresis
Tris-Borate-EDTA (TBE) Buffer ⁽³¹⁾	Tris ควบคุม pH, borate นำไฟฟ้า, EDTA ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่จะย่อยสลาย DNA	สำหรับ Gel-electrophoresis
Saline-Sodium Citrate (SSC) Buffer ⁽³²⁾	NaCl รักษาแรงดันออสโมซิส, sodium citrate ควบคุมความเป็นกรด	ใช้ในกระบวนการ Hybridization ของกรดนิวคลีอิก

กระบวนการทางฟิสิกส์

อุณหภูมิ เป็นปัจจัยทางกายภาพที่สำคัญที่มีผลต่อการเสื่อมสลายของกรดนิวคลีอิก จากการศึกษาข้อมูลการเก็บรักษา DNA และ RNA ในอุณหภูมิแช่แข็งต่อการคงทนของคุณภาพของ DNA พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดอยู่ที่ -80 องศาเซลเซียส⁽³³⁾ การสลายตัวของ DNA มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ DNA สัมผัสกับอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้น⁽³⁴⁾ โดยอุณหภูมิจะไปทำลายโครงสร้างการยึดจับกันระหว่างพันธะ hydrogen ของเบสคู่สม และพันธะ phosphodiester ทำให้สาย DNA และ RNA แตกหัก การสัมผัสความร้อนในระดับสูงและระยะเวลานาน

สามารถกระตุ้นให้ DNA เกิดความเสียหายผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การจับกันขอโปรตีนตามธรรมชาติ (protein aggregation) การสร้าง Reactive Oxygen Species (ROS) การตายของเซลล์ทั้งในสภาวะร้อนชื้นและร้อนแห้ง⁽³⁵⁾

ความชื้น ความชื้นในอากาศสามารถเพิ่มโอกาสที่โมเลกุลน้ำจะทำลายพันธะ phosphodiester โดยเร่งให้เกิดกระบวนการ hydrolysis⁽¹¹⁾ และยังสร้างสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการก่อตัวของอนุมูลอิสระ เช่น hydrogen peroxide ไปทำปฏิกิริยากับ guanine ใน DNA และ RNA โดยเปลี่ยนเป็น 8-oxoguanine ซึ่ง

8-oxoguanine สามารถจับคู่กับเบส adenine แทนที่จะเป็น cytosine ทำให้เกิดการกลายพันธุ์แบบ $G > T$ ($C > A$)⁽³⁶⁾ ซึ่ง RNA ที่มี 8-oxoguanine อาจถูกกำจัดผ่านกระบวนการ Nonsense-mediated RNA Decay Pathway⁽³⁷⁾ ยังมีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์สูงจะส่งผลกระทบต่อเสถียรภาพของ DNA โดยความชื้นทำให้คุณภาพของ DNA ลดลง ดังนั้นการจัดการปัจจัยแวดล้อม เช่น การลดระยะเวลาการนำส่งตัวอย่างและวิธีเก็บตัวอย่างจึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อลดผลกระทบจากความชื้นและรักษาคุณภาพของ DNA⁽³⁴⁾

แสงอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet light; UV)
ควรหลีกเลี่ยงแสง UV เพื่อป้องกันการเกิด pyrimidine dimer ซึ่งจะทำให้โครงสร้าง DNA และ RNA เสียหายจากปฏิกิริยาเคมี เมื่อแสง UV โดยเฉพาะ UVC โดย UV photon จะกระตุ้นให้เบสสองตัวใน DNA หรือ RNA ที่อยู่ติดกันเกิดพันธะ covalent ระหว่างเบส pyrimidine ที่อยู่ติดกัน เช่น thymine หรือ cytosine ใน DNA สายเดียวกัน ซึ่งยังสามารถเกิดขึ้นใน RNA สายคู่ (double-stranded RNA, dsRNA) เช่น uracil หรือ cytosine ส่งผลทำให้เกิดการบิดเบี้ยวของโครงสร้างเกิดเป็น cyclobutane ring ทำลายคู่เบสของโครงสร้างสายคู่ (double-stranded) บริเวณนั้น^(38,39)

การใช้อุปกรณ์ปลอดเชื้อ เนื่องจากจุลชีพอาจมีการปนเปื้อนอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมของห้องปฏิบัติการ เพื่อลดความเสี่ยงและหลีกเลี่ยงการย่อยสลายกรดนิวคลีอิกจากเอนไซม์ nuclease ของจุลชีพที่ปนเปื้อน ควรเลือกใช้วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือที่สะอาดปราศจากการปนเปื้อนของเอนไซม์ DNase และ RNase ในอุปกรณ์และวัสดุสิ้นเปลืองต่างๆ และปฏิบัติตามระบบคุณภาพมาตรฐานของห้องปฏิบัติการอย่างเคร่งครัด เช่น การทำความสะอาดพื้นที่ก่อนและหลังการปฏิบัติงานจะช่วยลดการเสื่อมสภาพของกรดนิวคลีอิกจากเอนไซม์ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมลงได้⁽¹⁷⁾

กระบวนการทางชีวภาพ

การใช้กลุ่มเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant enzyme) เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidation เช่น การเติมเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) เอนไซม์ catalase และเอนไซม์

peroxidase ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้เก็บสารพันธุกรรมหรือสารละลายที่ใช้ในกระบวนการสกัดสารพันธุกรรมเพื่อป้องกันการเกิด DNA/RNA degradation ในขั้นตอนแรกเอนไซม์ SOD จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสลายตัวของ superoxide anion ให้เป็น oxygen และ hydrogen peroxide จากนั้นเอนไซม์ catalase จะเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน hydrogen peroxide เป็นน้ำและ oxygen และเอนไซม์ peroxidase จะทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยา กระบวนการรีดิวซ์ hydrogen peroxide ให้กลายเป็นน้ำ ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้มีความสำคัญในการเผาผลาญสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant metabolism) เพิ่มความเสถียรให้กับสารพันธุกรรมสำหรับนำไปใช้ในการวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุลต่อไป⁽¹¹⁾

การใช้เอนไซม์ proteinase K เพื่อย่อยสลายโปรตีนภายในเซลล์และทำลายโครงสร้างของเอนไซม์ DNase และ RNase โดยทั่วไปความเข้มข้นสุดท้ายของเอนไซม์ proteinase K ที่เหมาะสม คือ 0.25 mg/mL อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถกำจัดโปรตีนทั้งหมดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในการจัดเก็บเอนไซม์ proteinase K ควรหลีกเลี่ยงการแช่แข็งและการละลายซ้ำๆ เพราะอาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์⁽⁴⁰⁾

การใช้สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNase และ RNase (DNase and RNase inhibitor) เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNase ด้วย DNase inhibitor และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ RNase ด้วย RNase inhibitor โดย DNase inhibitor เช่น EDTA จะทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNase ด้วยการไปแย่งจับกับไอออนโลหะ เช่น Mg^{2+} ซึ่งเป็น cofactor จะทำให้เอนไซม์ DNase ไม่สามารถทำงานได้⁽⁴¹⁾ สำหรับ RNase inhibitor เช่น hydroxyisoquinoline-dione (HID)-type active-site inhibitors ด้วยการไปแย่งจับกับตำแหน่ง active-site ของเอนไซม์ RNase เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นั้นโดยตรง⁽⁴²⁾

การใช้จุลินทรีย์ (Microorganisms) จุลินทรีย์ทั้งภายในและภายนอกร่างกายล้วนมีส่วนทำให้เกิดการย่อยสลายทางชีวภาพ จุลินทรีย์ไม่ได้ย่อย DNA โดยตรง แต่จุลินทรีย์จะผลิตเอนไซม์ ในกระบวนการย่อยสลาย

ทางชีวภาพซึ่งจะทำลายโมเลกุล DNA⁽⁴³⁾ การป้องกันการย่อยสลายจากจุลินทรีย์ เช่น การใช้ Viral Transport Medium (VTM) ที่มีส่วนผสมของ antibiotics ในการเก็บและขนส่งสิ่งส่งตรวจทางการแพทย์ จะช่วยทำลายเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่าง ยับยั้งการย่อยสลายสารพันธุกรรมจากเอนไซม์ nuclease ที่หลั่งมาจากเชื้อจุลินทรีย์เหล่านั้นที่อาจปนเปื้อนอยู่ในตัวอย่างดังกล่าว⁽⁴⁴⁾ และป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อก่อโรค

วิจารณ์

การเก็บรักษาสารพันธุกรรมให้มีความคงตัวและมีคุณภาพสูงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความแม่นยำในการวินิจฉัยทางชีวโมเลกุล โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีความจำเป็นต้องเก็บรักษาตัวอย่างในภาชนะหรือพื้นที่ห่างไกล การสกัดสารพันธุกรรมด้วย CTAB ร่วมกับ phenol-chloroform และ isoamyl alcohol พบว่ามีประสิทธิภาพในการสกัดและรักษาคุณภาพของ DNA ที่มีคุณภาพสูงได้จากตัวอย่างหลายชนิด⁽¹⁷⁾ ปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่ง คือ ลดการปนเปื้อนของ RNase ซึ่งเป็นตัวเร่งการเสื่อมสลายของ RNA การเลือกใช้น้ำบริสุทธิ์จาก Milli-Q PF plus หรือ DEPC-treated water รวมถึงการปฏิบัติงานที่ดี เช่น การสวมถุงมือขณะปฏิบัติงานและการอบเครื่องแก้วที่อุณหภูมิ 250–300 องศาเซลเซียส จะช่วยลดปัจจัยเสี่ยงต่อการเสื่อมคุณภาพของ RNA^(20,22)

สำหรับห้องปฏิบัติการที่ไม่มีเครื่องทำความเย็น เช่น ในพื้นที่ห่างไกล การใช้สารละลายที่สามารถเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องได้ เช่น NAP buffer สำหรับ RNA และ DESS buffer สำหรับ DNA โดยสามารถเก็บรักษา RNA ได้นานถึง 2 เดือน และ DNA ได้นานถึง 10 เดือน^(23,45) นอกจากนี้สาร guanidinium isothiocyanate (GITC) สามารถเก็บรักษา RNA และ DNA ไว้ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียสได้นาน 8 สัปดาห์ซึ่งเหมาะสำหรับตัวอย่างที่ต้องขนส่งจากพื้นที่ภาคสนามหรือพื้นที่ห่างไกลไปยังห้องปฏิบัติการ⁽⁴⁶⁾ ทั้งนี้มีรายงานว่า การใช้ FDL buffer สามารถเก็บตัวอย่างทางชีวภาพ เช่น น้ำลายหรือเลือดได้นานถึง 8 ปี โดยไม่จำเป็นต้องแช่แข็ง ซึ่งแสดงถึงศักยภาพของการเก็บตัวอย่าง

ในระยะยาว เพื่อการวิเคราะห์ DNA โดยไม่ต้องใช้กระบวนการที่ซับซ้อน^(3,4) RNAlater (น้ำยาสำหรับรักษาสภาพ RNA ในตัวอย่างเนื้อเยื่อและเซลล์เพื่อป้องกันการย่อยสลายของ RNA ก่อนการสกัด) ใช้ในการแช่แข็งแทนไนโตรเจนเหลวสำหรับการเก็บรักษาตัวอย่างโปรตีนภาคสนาม สามารถคงสภาพการเก็บรักษาได้ดีเทียบเท่ากับวิธี Flash freezing (การแช่แข็งแบบรวดเร็วโดยใช้อุณหภูมิต่ำมาก) สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นานถึง 4 สัปดาห์ ซึ่งข้อดีเหล่านี้ทำให้ RNAlater เป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการเก็บรักษาไม่เฉพาะแค่โปรตีนแต่รวมถึงการรักษา DNA และ RNA ดังนั้นในสถานการณ์ที่การใช้น้ำแข็งแห้งหรือไนโตรเจนเหลวมีข้อจำกัด สามารถใช้ RNAlater ในการเก็บรักษา DNA และ RNA ให้คงคุณภาพของตัวอย่างได้ดีเทียบเท่ากับการแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว นอกจากนี้ยังสามารถนำไปพัฒนาเทคโนโลยีวัสดุและระบบควบคุมอุณหภูมิที่ดีได้ในอนาคต⁽²⁵⁾

ตัวอย่างของผลกระทบจากการเก็บรักษาตัวอย่างที่ไม่เหมาะสม เช่น ในการตรวจวิเคราะห์หาสารพันธุกรรมของโรค COVID-19 ด้วย Real-Time PCR ต้องอาศัย RNA ที่มีความสมบูรณ์จากตัวอย่าง nasopharyngeal swab หากเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องนานเกิน 24 ชั่วโมง โดยไม่ได้ใช้สารเพื่อช่วยเก็บรักษา RNA เช่น RNAlater หรือไม่ได้แช่เย็นไว้ที่อุณหภูมิ 2–8 องศาเซลเซียส จะมีความเสี่ยงต่อการเสื่อมสภาพของ RNA เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ส่งผลให้ความไวของการตรวจวิเคราะห์ลดลง เกิดผลลบปลอมได้ และอาจส่งผลกระทบต่อการวินิจฉัยและควบคุมโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ห่างไกลที่ไม่มีระบบทำความเย็น การเลือกใช้วิธีการเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสม จึงอาจลดคุณภาพของสารพันธุกรรมจนไม่สามารถนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ได้

สรุป

การเก็บรักษา DNA และ RNA ให้มีความคงตัวในระยะยาวเป็นส่วนสำคัญที่ส่งผลต่อการตรวจวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุล มีหลายปัจจัยที่ควรพิจารณาก่อนจะนำมาใช้รักษาสารพันธุกรรมให้มีความเสถียร การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อ การเสื่อมสลายของสาร

พันธุกรรมจะช่วยให้สามารถเลือกใช้วิธีการต่างๆ ร่วมกันในการเก็บรักษา DNA และ RNA ได้อย่างมีประสิทธิภาพและให้ผลดีกว่าการเลือกใช้เพียงวิธีการเดียว เช่น ใช้การควบคุมอุณหภูมิร่วมกับการใช้สารเคมี เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNase และ RNase นอกจากนี้การเลือกใช้สารละลายบัฟเฟอร์เฉพาะที่เหมาะสมกับตัวอย่างแต่ละชนิดจะช่วยลดการเสื่อมสลายของ DNA และ RNA ได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะพื้นที่ที่อยู่ห่างไกลหรือขาดแคลนอุปกรณ์เก็บรักษาความเย็น การพัฒนานวัตกรรมใหม่ๆ โดยใช้วัสดุการเก็บรักษาที่มีต้นทุนต่ำ ไม่ต้องควบคุมอุณหภูมิ และมีขั้นตอนการเตรียมและการใช้งานที่ไม่ซับซ้อนจะช่วยเสริมสร้างเทคโนโลยีและเครื่องมือในการรักษาสารพันธุกรรมให้มีคุณภาพสูงขึ้นได้ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา และภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้ให้การสนับสนุนในการจัดทำบทความนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Kawane K, Motani K, Nagata S. DNA degradation and its defects. Cold Spring Harb Perspect Biol 2014; 6(6): a016394. (14 pages).
2. Bhojar L, Mehar P, Chavali K. An overview of DNA degradation and its implications in forensic caseworks. Egypt J Forensic Sci 2024; 14(1): 15. (19 pages).
3. Camacho-Sanchez M, Burraco P, Gomez-Mestre I, Leonard JA. Preservation of RNA and DNA from mammal samples under field conditions. Mol Ecol Resour 2013; 13(4): 663-73.
4. Kasu M, Ristow PG, Burrows AM, Kuplik Z, Gibbons MJ, D'Amato ME. Novel buffer for long-term preservation of DNA in biological material at room temperature. Biotechniques 2024; 76(8): 357-70.
5. Żarczyńska M, Żarczyński P, Tomsia M. Nucleic acids persistence—benefits and limitations in forensic genetics. Genes 2023; 14(8): 1643. (26 pages).
6. Keller W, Crouch R. Degradation of DNA RNA hybrids by ribonuclease H and DNA polymerases of cellular and viral origin. Proc Natl Acad Sci USA 1972; 69(11): 3360-4.
7. An R, Dong P, Komiyama M, Pan X, Liang X. Inhibition of nonenzymatic depurination of nucleic acids by polycations. FEBS Open Bio 2017; 7(11): 1707-14.
8. Wikipedia. Depurination. [online]. 2021; [cited 2024 Dec 22]; [2 screens]. Available from: URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Depurination>.
9. Wikipedia AP site. [online]. 2020; [cited 2024 Dec 22]; [3 screens]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/AP_site.
10. Houseley J, Tollervey D. The many pathways of RNA degradation. Cell 2009; 136(4): 763-76.
11. Wikipedia. Antioxidant. [online]. 2019; [cited 2024 Dec 22]; [11 screens]. Available from: URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Antioxidant>.
12. Nkuna R, Ijoma GN, Matambo TS. Applying EDTA in chelating excess metal ions to improve downstream DNA recovery from mine tailings for long-read amplicon sequencing of acidophilic fungi communities. J Fungi 2022; 8(5): 419. (18 pages).
13. Wikipedia. Category: chelating agents. [online]. 2020; [cited 2024 Dec 23]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Category:Chelating_agents.
14. Wikipedia. Sodium dodecyl sulfate. [online]. 2019; [cited 2024 Dec 23]; [4 screens]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_dodecyl_sulfate.

15. Wikipedia. Dithiothreitol. [online]. 2019; [cited 2024 Dec 23]; [4 screens]. Available from: URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Dithiothreitol>.
16. Wikipedia. Pyrimidine dimer. [online]. 2019; [cited 2024 Dec 27]; [5 screens]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Pyrimidine_dimer.
17. Minas K, McEwan NR, Newbold CJ, Scott KP. Optimization of a high-throughput CTAB-based protocol for the extraction of qPCR-grade DNA from rumen fluid, plant and bacterial pure cultures. *FEMS Microbiol Lett* 2011; 325(2): 162-9.
18. Beknazarova M, Millsteed S, Robertson G, Whiley H, Ross K. Validation of DESS as a DNA preservation method for the detection of *Strongyloides* spp. in canine feces. *Int J Environ Res Public Health* 2017; 14(6): 624. (7 pages).
19. Jones A, Fujiyama C, Smith K. RNA purification and quantification methods. *Methods Mol Med* 2001; 57: 241-53.
20. Claeys M, Al Obaidi S, Bruyland K, Vandecandelaere I, Vandesompele J. Assessment of DNA/RNA defend pro: an inactivating sample collection buffer for enhanced stability, extraction-free PCR, and rapid antigen testing of nasopharyngeal swab samples. *Int J Mol Sci* 2024; 25(16): 9097. (9 pages).
21. Shedlovskiy D, Shcherbik N, Pestov DG. One-step hot formamide extraction of RNA from *Saccharomyces cerevisiae*. *RNA Biol* 2017; 14(12): 1722-6.
22. Huang YH, Leblanc P, Apostolou V, Stewart B, Moreland RB. Comparison of Milli-Q PF Plus water to DEPC-treated water in the preparation and analysis of RNA. *Biotechniques* 1995; 19(4): 656-61.
23. Mordant A, Kleiner M. Evaluation of sample preservation and storage methods for metaproteomics analysis of intestinal microbiomes. *Microbiol Spectr* 2021; 9(3): e0187721. (14 pages).
24. Dankai W, Khunamornpong S, Siriaunkgul S, Soongkhaw A, Aithin P, Lekawanvijit S. An evaluation of phosphate buffer saline as an alternative liquid-based medium for HPV DNA detection. *Asian Pac J Cancer Prev* 2021; 22(11): 3441-5.
25. Jensen M, Wippler J, Kleiner M. Evaluation of RNAlater as a field-compatible preservation method for metaproteomic analyses of bacterium-animal symbioses. *Microbiol Spectr* 2021; 9(2): e0142921. (14 pages).
26. Thermo Fisher Scientific. RNAlater solutions for RNA stabilization and storage. [online]. 2024; [cited 2024 Dec 29]; [5 screens]. Available from: URL: <https://www.thermofisher.com/th/en/home/brands/product-brand/rnalater.html>.
27. Panda BB, Meher AS, Hazra RK. Comparison between different methods of DNA isolation from dried blood spots for determination of malaria to determine specificity and cost effectiveness. *J Parasit Dis* 2019; 43(3): 337-42.
28. Sorensen A, Berry C, Bruce D, Gahan ME, Hughes-Stamm S, McNevin D. Direct-to-PCR tissue preservation for DNA profiling. *Int J Legal Med* 2016; 130(3): 607-13.
29. MySkinRecipes. TRIS HCl (Tris Hydrochloride). [online]. 2024; [cited 2024 Dec 29]. Available from: URL: <https://www.myskin-recipes.com/shop/th/biological-buffers/35430-tris-hcl-tris-hydrochloride.html>.
30. Wikipedia. TAE buffer. [online]. 2019; [cited 2024 Dec 29]; [2 screens]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/TAE_buffer.
31. Wikipedia. TBE buffer. [online]. 2020; [cited 2024 Dec 29]; [2 screens]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/TBE_buffer.

32. Wikipedia. SSC buffer. Securly – Geolocation sharing. [online]. 2025; [cited 2025 Mar 29]; [1 screen]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/SSC_buffer.
33. Smith S, Morin PA. Optimal storage conditions for highly dilute DNA samples: a role for trehalose as a preserving agent. *J Forensic Sci* 2005; 50(5): 1101–8.
34. Habibi P, Ostad SN, Heydari A, Aliebrahimi S, Montazeri V, Foroushani AR, et al. Effect of heat stress on DNA damage: a systematic literature review. *Int J Biometeorol* 2022; 66(11): 2147–58.
35. Wikipedia. Tris. [online]. 2020; [cited 2024 Dec 27]; [4 screens]. Available from: URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Tris>.
36. Goetz AE, Wilkinson M. Stress and the non-sense-mediated RNA decay pathway. *Cell Mol Life Sci* 2017; 74(19): 3509–31.
37. Fowler EV, Starkie ML, Blacket MJ, Mayer DG, Schutze MK. Effect of temperature and humidity on insect DNA integrity evaluated by real-time PCR. *J Econ Entomol* 2024; 117(5): 1995–2002.
38. National Center for Biotechnology Information (NCBI). Pyrimidine Dimers [MeSH Terms]. MeSH Database. [online]. 2024; [cited 2024 Dec 27]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh?Cmd=DetailsSearch&Term=%22Pyrimidine+Dimers%22%5BMeSH+Terms%5D>.
39. Henry E, Charalambous E, Betsou F, Mathieson W. Implementing routine monitoring for nuclease contamination of equipment and consumables into the quality Management system of a laboratory. *Heliyon* 2024; 10(2): e24603. (11 pages).
40. Qamar W, Khan MR, Arafah A. Optimization of conditions to extract high quality DNA for PCR analysis from whole blood using SDS-proteinase K method. *Saudi J Biol Sci* 2017; 24(7): 1465–9.
41. Sohrabipour S, Muniz VS, Sharma N, Dwivedi DJ, Liaw PC. Mechanistic studies of DNase I activity: impact of heparin variants and PAD4. *shock* 2021; 56(6): 975–87.
42. Xi Z, Wang Z, Sarafianos SG, Myshakina NS, Ishima R. Determinants of active-site inhibitor interaction with HIV-1 RNase H. *ACS Infect Dis* 2019; 5(11): 1963–74.
43. Latham KE, Miller JJ. DNA recovery and analysis from skeletal material in modern forensic contexts. *Forensic Sci Res* 2018; 4(1): 51–9.
44. Kirkland PD, Frost MJ. The impact of viral transport media on PCR assay results for the detection of nucleic acid from SARS-CoV-2. *Pathology* 2020; 52(7): 811–4.
45. Nunes JS, Pimentel-Vera LN, Silva SB, de Bem Prunes B, Rados PV, Visioli F. Comparison of different DNA preservation solutions for oral cytological samples. *Arch Oral Biol* 2024; 158: 105867. (7 pages).
46. Tuttle RM, Waselenko JK, Yosseff P, Weigand N, Martin RK. Preservation of nucleic acids for polymerase chain reaction after prolonged storage at room temperature. *Diagn Mol Pathol* 1998; 7(6): 302–9.

Preservation of DNA and RNA for Molecular Biological Diagnosis

Kingkan Rakmanee and Treewat Watthanachockchai

Department of Pathology, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

ABSTRACT DNA and RNA are genetic information codes that play a crucial role in the regulation and transmission of hereditary traits in living organisms. These genetic materials can be degraded by various environmental factors such as temperature, humidity, UV radiation, and contamination with DNase and RNase enzymes in laboratory materials and equipment. Degradation of DNA and RNA can interfere with molecular diagnostic procedures. Preventing the degradation of genetic materials can be accomplished by chemical methods, such as the use of antioxidants, chelating agents, pH, physical processes such as storing samples at -80°C and avoiding exposure to UV light, and biological methods such as using sterile materials and equipment and preventing microbial activity. These processes are suitable for applications in preserving DNA, RNA, and biological samples for molecular analysis in medical laboratories.

Keywords: Genetic material, DNA, RNA, Genetic material degradation, Genetic material preservation