บทที่ 3 วิธีการศึกษา

3.1 ระเบียบวิธีวิจัย

3.1.1 <u>รูปแบบการวิจัย</u> การทดลองในสัตว์ทดลอง

3.1.2 <u>กลุ่มตัวอย่าง</u> หนู mouse พันธุ์ ICR น้ำหนักอยู่ในช่วง 25-35 กรัม จำนวน 19 ตัว แบ่งเป็น 6 กลุ่ม โดย

กลุ่มที่ 1 หนูปกติ (control) จำนวน 2 ตัว
กลุ่มที่ 2 หนูที่ได้รับ โพรพิลลิน ไกลคอล (propylene glycol: PG) ทางปาก จำนวน 4 ตัว
กลุ่มที่ 3 หนูที่ได้รับกลูโคส 1.5 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวหนู ทางปาก จำนวน 3ตัว
กลุ่มที่ 4 หนูที่ได้รับยา glibenclamide 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวหนู ทางปาก จำนวน 3 ตัว
กลุ่มที่ 5 หนูที่ได้รับยา glibenclamide 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวหนู ทางปาก จำนวน 4 ตัว
กลุ่มที่ 6 หนูที่ได้รับยา glibenclamide 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวหนู ทางปาก จำนวน 3 ตัว

3.1.3 <u>ตัวแปรที่ศึกษา</u>

ตัวแปรอิสระ คือ กลูโคส โพรพิลลิน ไกลคอล และการได้รับยา glibenclamide ในขนาดต่าง ๆ
ตัวแปรตาม คือ การแสดงออกของ HNF 1-α mRNA

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

ค้นคว้า รวบรวม ประมวลข้อมูลจากเอกสารต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง

↓

จัดเตรียมอุปกรณ์ เครื่องมือ สารเคมี และสัตว์ทดลอง

↓

ศึกษาเทคนิคในการใช้เครื่องมือ และการใช้สัตว์ทดลอง

↓

ทำการทดลองโดย

หนูทุกกลุ่มถูกงดอาหารประมาณ 12 ชั่วโมงก่อนฆ่าและแยกตับออกมา

กลุ่มที่ 1 หนูปกติ (control) ได้รับน้ำกลั่น
กลุ่มที่ 2 หนูได้รับโพรพิลลิน ไกลคอล (propylene glycol: PG) ทางปาก
กลุ่มที่ 3 หนูได้รับกลูโคส 1.5 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวหนู ทางปาก
กลุ่มที่ 4 หนูได้รับยา glibenclamide 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวหนู ทางปาก
หลังจากนั้น 30 นาทีได้รับ glucose 1.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
กลุ่มที่ 5 หนูที่ได้รับยา glibenclamide 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวหนู ทางปาก จำนวน 4 ตัว
หลังจากนั้น 30 นาทีได้รับ glucose 1.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

กลุ่มที่ 6 หนูที่ได้รับยา glibenclamide 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวหนู ทางปาก หลังจากนั้น 30 นาทีได้รับ glucose 1.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

หลังจากนั้น 30 นาที หนูทุกตัวถูกฆ่าโดยวิธีการดึงคอ (neck dislocation) และทำการแยกตับออกมา

↓

แยก RNA จากเนื้อเยื่อตับหนู

↓

วัดความเข้มข้นของ RNA

↓

การเตรียม cDNA จาก RNA โดยทำการ RT-PCR

↓

เพิ่มจำนวน cDNA โดยวิธี PCR

↓

เตรียม polyacrylamide gel

↓

ขั้นตอนการวัดขนาด DNA โดยวิธี gel electrophoresis

↓

เปรียบเทียบความเข้มข้นของ DNA และสรุปผล

3.3 อุปกรณ์ในการทำการวิจัยหรือเก็บข้อมูล

3.3.1 ultracentrifugation

3.3.2 gel electrophoresis

3.3.3 UV spectrophotometer

3.3.4 PCR system

3.3.5 Homogenizer