Thesis Title Ion Beam Bombardment for DNA Transfer and Cell Attachment

Author Miss Somjai Sangyuenyongpipat

Degree Doctor of Philosophy (Physics)

Thesis Advisory Committee

Prof.Dr.Thiraphat Vilaithong	Chairperson
Dr.Ian G. Brown	Member
Assoc.Prof.Dr.Somboon Anuntalabhochai	Member
Dr.Liangdeng Yu	Member

ABSTRACT

Ion beam bombardment of biological material has been recently applied for gene transfer in both plant and bacterial cells. Understanding of the fundamental mechanisms involved in ion interaction with living cells is not yet well developed. A fundamental question about the mechanism is the possible formation of pathways due to ion bombardment that are responsible for the gene transfer. Low energy bombardment of onion skin cells with both metallic and gaseous ion species, such as N, Ar, Cl, Xe, Fe, Mg, Ti, and Cu at fluences of 1–5 $\times 10^{15}$ ion/cm^2, can induce the formation of microcrater-like structures on the onion skin cell walls. A scanning electron microscope and an atomic force microscope (AFM) were used to observe these microcrater structures. Mass loss measurements indicate dehydration of the onion skin samples of up to 85% over a period of 5 minutes. Ex-situ AFM observations subsequent to Fe ion bombardment reveal an average microcrater depth of 60 nm, which compares with a penetration depth for Ti ions as determined experimentally using RBS characterization, of approximately 15 nm. Three different computer codes that provide a simulation of ion penetration in matter TRIM, T-Dyn and PROFILE have been used to investigate the expected depth profiles for the case of Ti bombardment, and compared with the experimental RBS results; it

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

was found that the PROFILE code shows the best correspondence to the RBS. The work reported here has also included the design and installation of an *in-situ* AFM system to the beam line of our bioengineering ion implantation facility, and ongoing relevant experiments. Work to-date has shown clear evidence of microcraters formed on onion skin cells bombarded by 25 keV Ar ion with fluence 1-2 $\times 10^{15}$ ion/cm^2, allowing comparison of observations made *in-situ* (in the vacuum chamber of the bio-implanter) and observations made in atmosphere some time after removal of the samples from the implanter.

The molecular dynamics simulations of Fe ion bombardment of onion skin cell wall have been carried out. A study of the interaction of energetic Fe ions with cellulose I-Beta surface which was used as a model material for the cell wall is reported, including results for ion penetration depth as a function of location, ion energy, and ion fluence. The calculations indicate that ion-bombarded cellulose molecules are broken into fragments by the collision, which fragments then initiate molecular collision cascades, leading to the ejection of intact molecules and molecular fragments from the surface.

Finally, methods have been developed for growing patterned networks of large numbers of neurons on plasma-processed substrates, as a tool for addressing some basic questions in neuroscience, such as for example, how large systems of neurons communicate. The use of metal ion implantation using a vacuum-arc ion source, and plasma deposition with a filtered vacuum arc system has been investigated, as a means of forming regions of selective neuronal attachment on surfaces. PC-12 rat neurons were then cultured on treated glass slides coated with Type I Collagen, and the neuron growth and differentiation monitored. Thin diamond-like carbon films formed by plasma deposition were found to be the most effective for selective neuron growth.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การระดมยิงเซลล์ด้วยลำไอออนเพื่อการถ่ายฝากดีเอนเอและการเกาะยึดของเซลล์

ผู้เขียน นางสาวสมใจ แสงยืนยงพิพัฒน์

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (ฟิสิกส์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ศ.ดร.ถิรพัฒน์ วิลัยทอง	ประธานกรรมการ
Dr.Ian G. Brown	กรรมการ
รศ.ดร.สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย	กรรมการ
Dr. Liangdeng Yu	กรรมการ

บทคัดย่อ

งานวิจัยในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาได้มีการประยุกต์เทคโนโลยีการระดมยิงลำไอออนกับการถ่ายฝากยีนในพืชและแบคทีเรีย กลไกมูลฐานของอันตรกิริยาระหว่างไอออนกับเซลล์สิ่งมีชีวิตยังไม่เป็นที่เข้าใจอย่างแจ่มแจ้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเด็นพื้นฐานที่เกี่ยวกับช่องทางที่เกิดขึ้นเนื่องจากการถูกระดมยิงด้วยไอออนซึ่งอาจเป็นทางส่งผ่านยีน การระดมยิงผนังเซลล์หัวหอมด้วยลำไอออนโลหะและก๊าซพลังงานต่ำเช่น ไนโตรเจน อาร์กอน คลอรีน ซีนอน เหล็ก แมกนีเซียม ไททาเนียม ทองแดง ที่ความหนาแน่นของไอออนในช่วง 1-5 $\times 10^{15}$ ไอออนต่อตารางเซนติเมตร ทำให้เกิดรูไมโครบนผิวของหัวหอมซึ่งสังเกตได้หลังระดมยิงโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด และกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม การทดลองพบว่าผนังเซลล์หัวหอมในสุญญากาศมีการระเหยของน้ำมากถึง 85 เปอร์เซนต์ภายใน 5 นาที พบว่าจากการสังเกตโดยอาศัยภาพถ่ายของกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม ความลึกของไอออนเหล็กที่เข้าไปในผนังเซลล์หัวหอมมีค่าเท่ากับ 60 นาโนเมตร การวิเคราะห์ความลึกของไอออนไททาเนียมที่เข้าไปในผนังเซลล์หัวหอมโดยใช้เทคนิค RBS มีค่าเท่ากับ 15 นาโนเมตร เมื่อเปรียบเทียบการคำนวนความลึกของไอออนในผนังเซลล์หัวหอมโดยใช้โปรแกรมจำลองสำเร็จรูปได้แก่ TRIM T-Dyn และ PROFILE พบว่าโปรแกรม PROFILE ให้ผลการคำนวนที่สอดคล้องกับผลการวัดโดยเทคนิค RBS ในรายงาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ฉบับนี้ยังได้กล่าวถึงการออกแบบและติดตั้งระบบกล้องจุลทรรศน์แบบแรงอะตอม เพื่อใช้เป็นเครื่องมือตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผนังเซลล์ภายในห้องสุญญากาศหลังระดมยิงด้วยลำไอออนผลการทดลองชี้ชัดว่าไอออนอาร์กอนพลังงาน 25 กิโลอิเล็คตรอนโวลต์ที่ความหนาแน่นในช่วง 1-2 $\times 10^{15}$ ไอออนต่อตารางเซนติเมตรพบว่าทำให้เปรียบเทียบผลการระดมยิงเซลล์ที่สังเกตในห้องสุญญากาศกับผลที่สังเกตได้ภายหลังการนำเซลล์ออกสู่บรรยากาศปกติ

ในส่วนของงานวิจัยเชิงคำนวนได้ศึกษาการจำลองทางพลศาสตร์เชิงโมเลกุลของการระดมยิงผนังเซลล์ของหัวหอมด้วยไอออนของเหล็กโดยใช้แบบจำลองโครงสร้างเซลลูโลสชนิด I-เบต้า แทนเพื่อวิเคราะห์หาความลึกของไอออนเหล็กที่บริเวณต่างๆสำหรับบางค่าพลังงานและความหนาแน่นลำไอออนผลการคำนวนชี้ให้เห็นว่าโมเลกุลของเซลลูโลสมีการแตกหักของพันธะคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน และเกิดการชนอย่างต่อเนื่องของโมเลกุลที่แตกจนทำให้เกิดการหลุดออกของชั้นผิวหน้าของเซลลูโลส

รายงานฉบับนี้ยังได้กล่าวถึงการประยุกต์ลำไอออนพลังงานต่ำกับงานทางด้านเซลล์สมองโดยได้มีการพัฒนาวิธีการใหม่ในการใช้พลาสมาปรับปรุงพื้นผิววัสดุสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเซลล์สมองเพื่อทำความเข้าใจระบบการติดต่อสื่อสารระหว่างเซลล์ประสาท ได้มีการนำสองเทคนิคของการฝังไอออนและพลาสมามาใช้ในการสร้างพื้นผิวที่เหมาะสมบนแผ่นแก้วและเคลือบทับด้วยคอลลาเจนเพื่อสังเกตการเจริญเติบโตและการยึดเกาะของเซลล์ประสาทหนู PC-12 และสามารถสรุปได้ว่าฟิลม์เพชรคล้ายคาร์บอนที่ความหนาประมาณ 100 Å ซึ่งสร้างชั้นจากเทคนิคของการพอกสะสมด้วยพลาสมาเป็นพื้นผิวที่ดีที่สุดสำหรับการเจริญเติบโตและการเกาะยึดของเซลล์.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved