



UNIVERSITI SAINS MALAYSIA



COMPARISON OF DNA EXTRACTION METHODS FROM DENTINE (OF TOOTH) AS A SOURCE OF GENETIC MATERIAL

**DR. AZLINA AHMAD
PUSAT PENGAJIAN SAINS PERGIGIAN
(304/PPSG/6131356)**

LAPORAN AKHIR PROJEK PENYELIDIKAN JANGKA PENDEK
FINAL REPORT OF SHORT TERM RESEARCH PROJECT

Sila kemukakan laporan akhir ini melalui Jawatankuasa Penyelidikan di Pusat Pengajian dan Dekan/Pengarah/Ketua Jabatan kepada Pejabat Pelantar Penyelidikan.

ST88

1. **Nama Ketua Penyelidik:** Dr Azlina Ahmad
Name of Research Leader

☐ Profesor Madya/
Assoc. Prof.

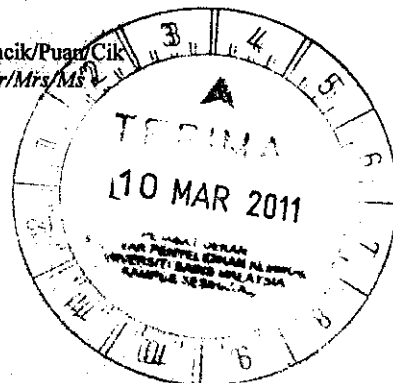
☒ Dr./
Dr.

☐ Encik/Puan/Cik
Mr/Mrs/Ms

2. **Pusat Tanggungjawab (PTJ):**
School/Department

Pusat Pengajian Sains Pergigian

3. **Nama Penyelidik Bersama:** Prof Dr Ab Rani Samsudin
Name of Co-Researcher
Dr Khairani Idah Mokhtar
Mr Mohd Ros Sidek



4. **Tajuk Projek:**
Title of Project

Comparison of DNA Extraction Methods from Dentin (of tooth) as a Source of Genetic Material

5. **Ringkasan Penilaian/Summary of Assessment:**

	Tidak Mencukupi Inadequate		Boleh Diterima Acceptable	Sangat Baik Very Good	
	1	2	3	4	5
i) Pencapaian objektif projek: <i>Achievement of project objectives</i>	☐	☐	☐	☐	☒
ii) Kualiti output: <i>Quality of outputs</i>	☐	☐	☐	☒	☐
iii) Kualiti impak: <i>Quality of impacts</i>	☐	☐	☐	☒	☐
iv) Pemindahan teknologi/potensi pengkomersialan: <i>Technology transfer/commercialization potential</i>	☐	☒	☐	☐	☐
v) Kualiti dan usahasama : <i>Quality and intensity of collaboration</i>	☐	☐	☐	☐	☒
vi) Penilaian kepentingan secara keseluruhan: <i>Overall assessment of benefits</i>	☐	☐	☐	☐	☒

6. Abstrak Penyelidikan

(Perlu disediakan di antara 100 - 200 perkataan di dalam Bahasa Malaysia dan juga Bahasa Inggeris. Abstrak ini akan dimuatkan dalam Laporan Tahunan Bahagian Penyelidikan & Inovasi sebagai satu cara untuk menyampaikan dapatan projek tuan/puan kepada pihak Universiti & masyarakat luar).

Abstract of Research

(An abstract of between 100 and 200 words must be prepared in Bahasa Malaysia and in English).

This abstract will be included in the Annual Report of the Research and Innovation Section at a later date as a means of presenting the project findings of the researcher/s to the University and the community at large)

Attached as Appendix 1

7. Sila sediakan laporan teknikal lengkap yang menerangkan keseluruhan projek ini.

[Sila gunakan kertas berasingan]

Applicant are required to prepare a Comprehensive Technical Report explaining the project.

(This report must be appended separately)

Attached as Appendix 2

Senaraikan kata kunci yang mencerminkan penyelidikan anda:

List the key words that reflects your research:

<u>Bahasa Malaysia</u>	<u>Bahasa Inggeris</u>
<u>DNA mitokondria</u>	<u>Mitochondrial DNA</u>
<u>Dentin</u>	<u>Dentin</u>
<u>Gigi</u>	<u>Gigi</u>

8. Output dan Faedah Projek

Output and Benefits of Project

(a) * Penerbitan Jurnal

Publication of Journals

(Sila nyatakan jenis, tajuk, pengarang/editor, tahun terbitan dan di mana telah diterbit/diserahkan)

(State type, title, author/editor, publication year and where it has been published/submitted)

The manuscript had been submitted to Archives of Orofacial Sciences on 24th Feb. 2011, reference number 2011/AOS/22 and currently under review.

Copy of the manuscript and letter of submission to Archives of Orofacial Sciences are attached as Appendix 3.

- (b) **Faedah-faedah lain seperti perkembangan produk, pengkomersialan produk/pendaftaran paten atau impak kepada dasar dan masyarakat.**
State other benefits such as product development, product commercialisation/patent registration or impact on source and society.

With the available techniques of mtDNA extraction from tooth as describe in this study, any relevant research which required the same technique can be used by the researchers/ academicians, especially among USM researchers.

* Sila berikan salinan/Kindly provide copies

- (c) **Latihan Sumber Manusia**
Training in Human Resources

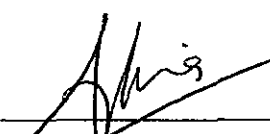
- i) Pelajar Sarjana:
Graduates Students
(Perincian nama, ijazah dan status)
(Provide names, degrees and status)

NA

- ii) Lain-lain:
Others

Attachment training in Human Genome Centre for trainee lecturer then (2005),
Dr Zurairah Berahim from PPSG.

9. **Peralatan yang Telah Dibeli:**
Equipment that has been purchased
Not applicable.


Tandatangan Penyelidik
Signature of Researcher

3/3/2011
Tarikh
Date

Komen Jawatankuasa Penyelidikan Pusat Pengajian/Pusat
Comments by the Research Committees of Schools/Centres

Penyelidikan ini telah berjaya ditamatkan dengan hasil yang baik.

1. Penemuan teknik mDNA extraction yang boleh diaplikasikan oleh penyelidik lain.
2. Penerbitan - manuskrip telah dihantar untuk penerbitan di 'Archive of Orogenical Sciences'



**TANDATANGAN PENERUSI
JAWATANKUASA PENYELIDIKAN
PUSAT PENGAJIAN/PUSAT**
Signature of Chairman
[Research Committee of School/Centre]

PROFESSOR ZULKIFLI AHMAD
Profesor Perubatan Masyarakat
Timbalan Dekan
(Penyelidikan & Pengajian Siswazah)
Pusat Pengajian Sains Pergigian
USM Kampus Kesihatan
16150 Kubang Kerian, Kelantan.

9.3.2011
Tarikh
Date

3 Mac 2011

Pengerusi

Jawatankuasa Penyelidikan Pusat Pengajian Sains Pergigian
Universiti Sains Malaysia
Kampus Kesihatan
16150 Kubang Kerian
Kelantan, Malaysia

Y. Bhg. Prof.,

LAPORAN AKHIR PROJEK PENYELIDIKAN JANGKA PENDEK

Dengan hormatnya saya merujuk kepada perkara seperti yang tersebut di atas.

2. Projek penyelidikan jangka pendek yang bertajuk "**Comparison of DNA Extraction Methods from Dentin (of tooth) as a Source of Genetic Material**" yang diketuai oleh saya, **Dr Azlina Ahmad**, telah dimulakan pada **16 Mac 2005** dan tamat pada **15 Mac 2007**.
3. Mengikut garis panduan, laporan akhir projek penyelidikan ini sepatutnya dihantar kepada pihak Jawatankuasa dan seterusnya kepada Pejabat Pelantar Penyelidikan selepas tarikh akhir projek penyelidikan. Namun disebabkan pada masa tersebut saya sedang dalam tempoh **cuti belajar** di **Universiti Tokushima, Tokushima, Jepun** yang bermula pada **5 October 2006**, maka saya tidak dapat menghantar laporan akhir projek penyelidikan ini. Maka setelah **tamat tempoh cuti belajar** iaitu pada **akhir tahun 2010**, saya telah menyediakan laporan tersebut.
4. Sehubungan itu, saya **memohon maaf** di atas kelewatan menghantar laporan akhir ini dan juga semoga laporan akhir projek penyelidikan jangka pendek yang dilampirkan bersama-sama surat ini diterima untuk penilaian pihak Jawatankuasa Penyelidikan dan juga pihak Pejabat Pelantar Penyelidikan.

Sekian, terima kasih.

Yang benar,



(DR AZLINA AHMAD)

Appendix 1

Abstract

Mitochondrial DNA (mtDNA) is a maternally inherited hereditary material located in mitochondria. Previous studies on mtDNA proved that the mutations are closely related with a number of genetic illnesses and exploitable for forensic identification. Those findings imply the importance of mtDNA in the scientific field. The mtDNA can be found in abundance in tooth dentin where it is being kept protected by the enamel, the hardest outer part of the tooth. In this study, two techniques of mtDNA extraction were compared to determine the efficacy between the two techniques. After the extraction of tooth, the tooth was kept at -20°C until use. Later, pulp tissue and enamel were excised out using dental bur and only the root dentin was utilized for the isolation of mtDNA by crushing it mechanically into powder form. The mtDNA was then extracted using the two published methods, Pfeiffer and Budowle and then subjected to spectrophotometry for DNA quantification and purity, Polymerase chain reaction (PCR) amplification of hypervariable-two region of mtDNA, followed by DNA sequencing to analyze the reliability of the extraction techniques. In conclusion, both techniques proved to be efficient and consistent for the extraction of mtDNA from tooth dentin.

Abstrak

DNA mitokondria (mtDNA) ialah bahan genetik yang hanya boleh diwarisi daripada salur-galur wanita sahaja. Penyelidikan terdahulu mendapati mutasi pada mtDNA boleh menyebabkan beberapa penyakit genetik selain boleh dieksploitasi untuk pengenalan forensik. Penemuan-penemuan tersebut menunjukkan kepentingan mtDNA di dalam bidang sains. Di dalam gigi, mtDNA boleh didapati dengan banyaknya di bahagian dentin dan dentin ini dilindungi dari kerosakan oleh bahagian luar gigi, enamel, yang merupakan bahagian yang paling keras. Dalam kajian ini, dua teknik pengekstrakan mtDNA telah dibandingkan bagi mencari teknik yang lebih efisien. Gigi yang telah dicabut disimpan

pada suhu -20°C sebelum digunakan. Bahagian dentin akar kemudiannya diasingkan daripada tisu pulpa dan enamel menggunakan *dental bur* dan selepas itu dihancurkan secara mekanikal kepada bentuk serbuk sebelum digunakan dalam pengekstrakan mtDNA. Teknik Pfeiffer dan teknik Budowle kemudiannya digunakan untuk mengekstrak mtDNA. Selepas itu, kuantiti dan ketulenan mtDNA yang telah diekstrak diuji menggunakan spektrophotometer diikuti dengan amplifikasi gen mtDNA di kawasan *hypervariable-two* menggunakan teknik Tindakbalas Polymerase Berantailan (PCR) sebelum penjujukan DNA dilakukan ke atas hasil amplifikasi tersebut. Teknik-teknik analisa mtDNA dilakukan bertujuan membuktikan kebolehgunaan mtDNA yang diekstrak daripada dentin gigi. Kesimpulannya ialah kedua-dua teknik pengekstrakkan mtDNA daripada bahagian dentin gigi yang digunakan adalah efisien dan konsisten.