

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ประดิษฐ์ระบบเครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้า ซึ่งประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วนคือ ส่วนของห้องบรรจุเซลล์ ส่วนสร้างคลื่นไฟฟ้า ส่วนขยายภาพ-บันทึกและแสดงผล โดยสามารถสร้างสัญญาณคลื่นรูปไซน์กระตุ้นให้เซลล์เข้ามาเรียงตัวกัน และใช้สัญญาณคลื่นรูปพัลส์กระตุ้นเซลล์เข้ามาหลอมรวมกันได้ การหลอมเซลล์จะเกิดขึ้นในส่วนของห้องบรรจุเซลล์ ที่ทำจากกระจกสไลด์และมีขั้วโลหะทิตาเนียมกับแพลตินัมเป็นขั้วรับสัญญาณไฟฟ้าเพื่อป้องกันแก่เซลล์ นอกจากนี้ส่วนขยาย-แสดงผลและบันทึกผล สามารถขยายภาพเซลล์ NS-1 ขนาด 5-10 μm ที่แขวนลอยในห้องบรรจุเซลล์ ให้มองเห็นอย่างชัดเจน ในจอโทรทัศน์ได้รวมทั้งสามารถบันทึกภาพขณะเซลล์เข้ามาเรียงและหลอมรวมกันลงในเทปวีดิทัศน์ได้ซึ่งสะดวกในการนับจำนวนเซลล์และการสังเกตขั้นตอนการหลอมรวมเซลล์ได้เป็นอย่างดี

ในงานวิจัยนี้ได้นำระบบเครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้าที่ประดิษฐ์ไปทดสอบการหลอมเซลล์ NS-1 โดยศึกษาปัจจัยทางชีวเคมีของสารละลายสำหรับหลอมเซลล์และปัจจัยทางไฟฟ้าซึ่งพบว่าสารละลายสำหรับหลอมเซลล์ที่เหมาะสมกับสารละลายเข้มข้น 70 mM ซึ่งเป็นภาวะไฮโปออสโมลาร์สำหรับเซลล์ NS-1 และอออนของแคลเซียมและแมกนีเซียมในสารละลายซอร์บิทอล 70 mM จะช่วยให้เซลล์หลอมกันได้ดีและลดปริมาณเซลล์แตกที่เกิดขึ้นให้น้อยลง โดยความเข้มข้นของอออนที่ให้ผลการหลอมเซลล์สูงคือ แคลเซียมอออน 0.25 mM (34.22%) และแมกนีเซียมอออน 0.5 mM (29.46 %) เมื่อใช้อออนผสมระหว่างแคลเซียมอออน 0.25 mM และแมกนีเซียมอออน 0.5 mM เพิ่มลงไปในสารละลายซอร์บิทอล 70 mM จะให้ผลการหลอมเซลล์จะเกิดสูงสุดคือ 37 % ซึ่งผลการหลอมเซลล์ที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างเด่นชัด เมื่อใช้อออนของแคลเซียม 0.25 mM หรือ อออนของแมกนีเซียม 0.5 mM เพียงชนิดเดียว

ปริมาณเซลล์แตกโดยเฉลี่ยที่เกิดขึ้นในอออนผสมมีเปอร์เซ็นต์ต่ำกว่าเมื่อใช้อออนเพียงชนิดเดียว

การศึกษาปัจจัยทางไฟฟ้าของสัญญาณคลื่นรูปไซน์ที่กระตุ้นให้เซลล์มาเรียงกัน เซลล์หลอมรวมกันได้ดีเมื่อใช้ความถี่ 1 MHz และแรงดันในช่วง 20-30 Vpp ส่วนสัญญาณคลื่นรูปพัลส์ที่ใช้กระตุ้นให้เซลล์เข้ามาหลอมรวมกันนั้น เซลล์จะหลอมรวมกันได้ดีเมื่อใช้จำนวนพัลส์ 3-4 พัลส์, ความกว้างพัลส์ 10 μ s และแรงดันพัลส์ 250 V ถ้าใช้จำนวนพัลส์, ความกว้างพัลส์ และแรงดันพัลส์มากกว่า เซลล์จะแตกมากและหลอมกันได้น้อย และถ้าใช้ปัจจัยดังที่กล่าวมาน้อยกว่านี้เซลล์จะหลอมกันได้น้อย

จากการศึกษาปัจจัยทางชีวเคมีของสารละลายสำหรับหลอมเซลล์ และปัจจัยทางไฟฟ้าเมื่อทำการทดลองภายใต้ห้องบรรจุเซลล์ขนาด 2 mm จะให้ผลการหลอมเซลล์สูงสุดคือ 37 % เมื่อใช้สารละลายสำหรับหลอมเซลล์คือ สารละลายซอร์บิทอล 70 mM ที่มีอออนของแคลเซียม 0.25 mM และ อออนของแมกนีเซียม 0.5 mM ใช้สัญญาณคลื่นรูปไซน์ความถี่ 1 MHz แรงดันขนาด 30 Vpp สัญญาณคลื่นรูปพัลส์จำนวน 4 พัลส์ ความกว้างพัลส์ 10 μ s และแรงดันพัลส์ 300 V

จากรายงานของ Finaz และคณะ (1984) ได้หลอมเซลล์ไฟโบรบลาสต์หนูกับ hamster CHO cells ด้วยเครื่องหลอมเซลล์ยี่ห้อ cober 605 pulse genertor และใช้ห้องบรรจุเซลล์ที่ทำจากสแตนเลส ใช้สัญญาณคลื่นรูปพัลส์จำนวน 5 พัลส์ สนามไฟฟ้า 1.5 kV/cm และมีความกว้างพัลส์ 50 μ s สามารถหลอมเซลล์ได้ 90% และจากรายงานของ Zheng และ Zhao ปี 1989 ซึ่งทำ Homozygous fusion ของเซลล์เยื่อบุผิวเซลล์ IBRS2 โดยใช้ห้องบรรจุเซลล์ที่ทำจากกระจกสไลด์และขั้วโลหะแพลตินัมแบบเส้น ใช้เครื่องกำเนิดสัญญาณคลื่นรูปพัลส์ คือ SDG Square wave stimulator ของบริษัท GRASS Instrument ประเทศอเมริกา สามารถหลอมเซลล์ได้ประมาณ 90% เมื่อใช้สัญญาณคลื่นรูปพัลส์จำนวน 4 พัลส์, ความกว้างพัลส์ 100 μ s และสนามไฟฟ้า 1.7 kV/cm การศึกษาของ Sower ในปี 1989 ในการหลอมเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยใช้เครื่องหลอมเซลล์และห้องบรรจุเซลล์ที่ประดิษฐ์ขึ้นใช้เองในงานวิจัย ได้ผลการหลอมเซลล์เม็ดเลือดแดงของกระต่าย 90% เมื่อใช้ความเข้มสนามไฟฟ้าและครึ่ง

เวลาการลดลงของสัญญาณคลื่นรูปพัลส์แบบเอ็กซ์โปเนนเชียลเป็น 6 kV/cm และ 1 ms ตามลำดับ

นอกจากนี้จากรายงานของ Takahashi และคณะ (1991) ได้รายงานผลการหลอมเซลล์มะเร็งหนูและเซลล์ลิมโฟซัยต์หนู (NS-1, P3x63Ag8xbalb/c and mouse lymphocyte) ใช้ห้องบรรจุเซลล์ที่ทำจากสแตนเลสรูปวงกลม ใช้เครื่องกำเนิดสัญญาณคลื่นรูปไซน์ รุ่น FG-501 และเครื่องกำเนิดสัญญาณคลื่นรูปพัลส์ ยี่ห้อ Tektronix FG-505 ของประเทศเยอรมัน ทำให้เซลล์เข้ามาเรียงติดกันด้วยเครื่องปั่นและกระตุ้นให้เซลล์หลอมรวมกัน เมื่อใช้สัญญาณคลื่นรูปไซน์ความถี่ 10 kHz , สนามไฟฟ้า $9-10 \text{ kV/cm}$ ใช้เวลา 0.4 ms จะสามารถทำให้เซลล์เข้ามาหลอมกันได้ 95%

ระบบเครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้าที่ประดิษฐ์ขึ้นสามารถทำให้เซลล์มาเรียงและหลอมรวมกันได้ จากรายงานที่กล่าวมาแล้วข้างต้นจะเห็นว่าเปอร์เซ็นต์การหลอมเซลล์ที่เกิดขึ้นจะต่ำกว่า ดังนั้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการหลอมเซลล์ให้ดีขึ้น ระบบเครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้าจึงควรมีการพัฒนาต่อไป