บทที่ 1

บทนำ

การพัฒนาสมบัติของสิ่งมีชีวิตหรือการปรับปรุงพันธุ์ จะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อมีการเปลี่ยนสมบัติขั้นพื้นฐานของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจะเป็นการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมของเซลล์ในระดับยีนและโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตนั้นๆหรือเรียกว่าการกลายพันธุ์(Mutation) การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นนี้อาจเกี่ยวข้องกับการสูญหายไปของส่วนของยีน การสูญหายไปหรือการเข้ามาของส่วนของโครโมโซมที่ครอบคลุมมากกว่าหนึ่งยีน การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นนี้จะแสดงลักษณะที่ดีและไม่ดีออกมา การกลายพันธุ์นี้อาจเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติ ซึ่งโดยทั่วไปจะมีโอกาสเกิดได้น้อยมาก(10^{-5}-10^{-6}ต่อเซลล์ต่อรุ่น) นอกจากนี้ยังสามารถกระตุ้นให้เกิดการ กลายพันธุ์โดยการชักนำจากภายนอก เช่น การใช้รังสีอัลตราไวโอเลต, รังสีนิวตรอนหรือรังสีแกมมา เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้โดยการใช้สารเคมีในกลุ่มของแอลคิลเลทติงเอเจนต์(Alkylating agent) ได้แก่ กรดไนตรัส(HNO_2), เอททิลลีนอิมีน (Ethyleneimine), เอททิลมีเทน ซัลโฟเนต(Ethyl methane sulfonate) เป็นต้น ซึ่งการเหนี่ยวนำเพื่อทำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยวิธีนี้จะสามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้มากกว่าการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติถึง 10-1000 เท่า

นอกจากวิธีที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว วิธีที่นิยมในการปรับปรุงพันธุ์ในปัจจุบัน คือวิธีการทางพันธุวิศวกรรม(Genetic engineering) สำหรับการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมนั้นเป็นวิธีที่สามารถกำหนดเจาะจงยีนที่ต้องการ แล้วนำยีนที่ต้องการจากเซลล์หนึ่งถ่ายทอดสู่อีกเซลล์หนึ่งเพื่อให้เกิดผลผลิตตามที่ต้องการ แต่อย่างไรก็ตามการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีนี้เป็นกระบวนการที่ยุ่งยากและซับซ้อน จะต้องทราบรายละเอียดทางพันธุกรรมของเซลล์นั้นๆ รวมถึงการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการเป็นอย่างดี นอกจากวิธีที่กล่าวมาข้างต้นแล้วยังมีอีกวิธีที่ใช้กันมากในปัจจุบันเช่นกันคือการหลอมเซลล์(Cell fusion) การหลอมเซลล์นั้นเป็นวิธีที่สามารถหลอมรวมเซลล์ระหว่าง 2 สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน และทำให้เกิดลูกผสมที่มีลักษณะที่ดีของทั้ง

สองเซลล์ เช่น การหลอมโปรโตพลาสท์ของเชื้อจุลินทรีย์ *Cephalosporium acremonium* 2 สายพันธุ์เข้าด้วยกัน เพื่อได้ลูกผสมที่เจริญเร็ว สร้างสปอร์ สามารถใช้สารอนินทรีย์ซัลเฟต และผลิตเซฟาโลสปอร์ลิน ซี ได้มากกว่าสายพันธุ์พ่อแม่[Hamlyn and Ball, 1979] ซึ่งสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตยาปฏิชีวนะได้อีกด้วย ในทางการแพทย์ได้มีการทำการหลอมเซลล์ลิมโฟซัยต์(Lymphocyte cell) กับเซลล์มะเร็ง(Myeloma cell) จะทำให้ได้เซลล์ไฮบริโดมา (Hybridoma cell) ซึ่งเป็นเซลล์ลูกผสมที่สามารถผลิตแอนติบอดีต่อเชื้อแบคทีเรีย [Kohler and Milstein,1975 cited by Zimmermann, 1982] เชื้อไวรัส [Groce et al.,1980] เซลล์เนื้องอกและเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว(Leukemia)[Ollsson and Kaplan, 1980 cited by Zimmermann,1982] โดยเซลล์ไฮบริโดมาที่ได้จากการหลอมเซลล์ทั้งสองชนิดสามารถเลี้ยงและเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ จากสมบัติที่ได้นี้จะเป็นประโยชน์อย่างมากในทางการแพทย์

การหลอมเซลล์ที่กล่าวมาข้างต้นนั้น ในปัจจุบันสามารถทำได้ 3 วิธีดังนี้

1. การหลอมเซลล์โดยใช้ไวรัสเหนี่ยวนำ เช่น เซนไดไวรัส(Sendai virus)เหนี่ยวนำเซลล์เม็ดเลือดแดงให้มาหลอมกัน [Knutton, 1980]

2. การหลอมเซลล์โดยใช้สารเคมี(Chemical method) เช่น สารโพลีเอททิลลีนไกลคอล (Polyethylene glycol; PEG), กลีเซอรอล(Glycerol) เป็นต้น ซึ่งสารที่นิยมใช้กันมากคือ โพลีเอทิลลีนไกลคอลที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดต่างๆ

3. การหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้า(Electrofusion) เป็นเทคนิคที่นำไฟฟ้ามากระตุ้นให้เซลล์เข้ามาหลอมรวมกัน โดยใช้สนามไฟฟ้าขนาดหลายกิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร ในช่วงเวลาสั้นเป็น 10^{-6} วินาที

การหลอมเซลล์โดยใช้ไวรัสนั้นยังไม่เป็นที่นิยมมากนัก ในปัจจุบันจะใช้สารเคมีและไฟฟ้าในการหลอมเซลล์มากกว่า แต่บางครั้งการใช้สารเคมีเช่นโพลีเอททิลลีนไกลคอล อาจทำให้เป็นพิษแก่เซลล์ได้เช่นกัน[Kadish et al., 1983] และจากรายงานของ Tomita และ Tsong ในปี 1990 ได้ทำการหลอมเซลล์บี-ลิมโฟซัยต์กับเซลล์มะเร็ง(B-Lymphocyte cells x Myeloma cells) พบว่าการหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้า จะได้ผลของเซลล์หลอมมากกว่าการใช้สารโพลีเอทิลลีนไกลคอล 3-15 เท่า ในเซลล์พืชก็ได้นำการหลอมเซลล์โดยใช้ไฟฟ้าไปช่วยเพิ่ม

จำนวนชุดของโครโมโซมในมันฝรั่ง ดังเช่นการหลอมโปรโตพลาสท์มันฝรั่งต่างสปีชีส์ ซึ่งได้แก่ *Solanum brevidans* กับ *Solanum tuberosum* โดยที่ *S. brevidan* เป็นพันธุ์ที่ต้านทานต่อเชื้อไวรัส PLRV และ ไวรัส PVY เมื่อนำมาหลอมกับ *S. tuberosum* ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ใช้ปลูกในการค้าและไม่ต้านทานต่อเชื้อไวรัสทั้งสองชนิด จะได้ต้นมันฝรั่งลูกผสมที่ต้านทานต่อเชื้อไวรัสและมีผลผลิตสูง [Austin et al.,1986 cited by Jones,1988] นอกจากนี้ยังมีการนำไฟฟ้าไปใช้ในหลอมเซลล์ยีสต์และเซลล์อื่นๆ อีกหลายชนิด

การหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้ามีการนำมาใช้ครั้งแรกในการหลอมโปรโตพลาสท์ของพืช โดย Senda และคณะ ในปี 1979 ต่อมา Scheurich and Zimmermann ทำการหลอมเซลล์เม็ดเลือดแดงของคนในปี 1981 ต่อมา Zimmermann และคณะ (1982) ได้นำการทำไดอิเล็กโทรฟอรีซีส(Dielectrophoresis) ค้นพบโดย Pohl และ Crane ในปี 1972 เข้ามาใช้ในการหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้า ซึ่งการทำไดอิเล็กโทรฟอรีซีสจะช่วยทำให้เซลล์มาเรียงตัวกันเป็นผลอัตราการหลอมรวมกันดีขึ้น หลังจากนั้นได้มีการนำไฟฟ้าไปกระตุ้นเซลล์และมีการศึกษาภาวะที่มีผลต่อเซลล์ดังนี้

Kohn และคณะ (1985) ทำการศึกษาการหลอมโปรโตพลาสท์ของยาสูบด้วยไฟฟ้า(*Nicotina tabacum*) สายพันธ์ nia-63 กับ cnx-68 และสามารถชักนำโปรโตพลาสท์ให้เกิดกลุ่มเนื้อเยื่อและต้นได้เป็นกลุ่มแรก

Vienken และคณะ (1985) ได้รายงานว่าการหลอมเซลล์เม็ดเลือดแดง และการหลอมเซลล์มะเร็งในสารละลายสำหรับหลอมเซลล์ที่มีความเข้มข้นของอิออนสูง เซลล์จะอยู่รอดได้มากกว่าการหลอมเซลล์ในสารละลายสำหรับหลอมเซลล์ที่มีความเข้มข้นของอิออนต่ำ

จากรายงานของ Vienken และ Zimmermann (1985), Ohnishi และคณะ (1987), Foung และ Perkins (1989), Zimmermann และคณะ (1990) พบว่าการหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้าจะให้ผลผลิตของเซลล์ไฮบริโดมา(Hybrid yield) มากกว่าการใช้สารโพลีเอทิลลีนไกลคอล

Tempelaar และคณะ (1987)ได้รายงานการใช้แคลเซียมอิออนในการหลอมโปรโตพลาสท์ของมันฝรั่ง(Solanum brevidens x S. tuberosum) พบว่าอิออนของแคลเซียมจะช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์เซลล์หลอมให้สูงขึ้น

Bertsche และคณะ (1988) ได้หลอม Munjac cells กับ V79-S181 cells โดยศึกษาลักษณะเซลล์หลอมที่ได้จากการย้อมสีนิวเคลียส(Gimsa stain) ของเซลล์ที่กำลังหลอมรวมกันที่เวลาต่างๆ พบว่าเซลล์ที่มีนิวเคลียสขนาดใหญ่กว่าจะกลืนเซลล์ที่มีนิวเคลียสขนาดเล็กกว่า

Sower และคณะ (1989) ได้ศึกษาการหลอมเซลล์เม็ดเลือดแดงของกระต่ายและเซลล์เม็ดเลือดแดงของคน ซึ่งมีขนาดเท่ากันแต่ต่างอันดับ(Order) พบว่าเซลล์ของกระต่ายจะหลอมกันได้มากกว่าเซลล์ของคนเมื่อใช้ภาวะทางไฟฟ้าเท่ากัน

Chang (1989) สามารถทำการหลอมเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยใช้สัญญาณคลื่นรูปไซน์ผสมกับสัญญาณคลื่นรูปพัลส์ (RF field x DC pulse) ต่อมา Takahashi และคณะ (1991) ได้ทดลองใช้สัญญาณคลื่นรูปไซน์เพียงอย่างเดียว(AC pulse) ในการหลอมเซลล์มะเร็งหนูกับเซลล์ลิมโฟซัยต์ พบว่าสามารถหลอมเซลล์ได้เช่นกัน

Foung และคณะ (1990), Zimmermann และคณะ(1990) ได้ทดลองหลอมเซลล์ลิมโฟซัยต์(Human B-Lymphocyte) กับเซลล์มะเร็ง $K_6H_6/B5$ (Mouse-human heteromyeloma cell) และ เซลล์ม้ามของหนู C57BL กับ เซลล์มะเร็งหนู SP2/0-Ag14 ตามลำดับ พบว่า การหลอมเซลล์ในสารละลายสำหรับหลอมเซลล์ในภาวะไฮโปออสโมลาร์จะได้เปอร์เซ็นต์ของเซลล์ไฮบริโดมา มากกว่าภาวะไอโซออสโมลาร์

นอกจากนี้ยังมีการหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้าในเซลล์ชนิดต่าง ๆ โดยใช้ภาวะของคลื่นรูปพัลส์ ดังแสดงในตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 ตัวอย่างการหลอมรวมเซลล์ด้วยไฟฟ้า

ชนิดของเซลล์	การเรียงตัวของเซลล์	การรวมตัวโดยใช้พัลส์	อ้างอิง
1. เซลล์สัตว์			
Friend erythroleukemia cells	AC: 100V/cm, 100 kHz- 2 MHz	SP: 4 kV/cm	Piwat et al.(1981)
Human erythrocytes	AC: 500 V/cm, 2 MHz	SP : 2 kV/cm , 3 μs	Scheurich and Zimmermann(1981)
NIH 3T3 cells	AC : 400-700 V/cm ,1 MHz	SP : 7 kV/cm , 50 μs	Zimmermann and Pilwat(1982)
Mouse myeloma cells x mouse lymphocytes	AC: 100 V/cm, 1 MHz	SP: 4 kV/cm , 20 μs	Vienken and Zimmermann(1982)
Human myeloma L363 cells x human B lymphocytes	AC: 100 V/cm, 1 MHz	SP: 3.5 kV/cm	Bischhoff *et al.* (1982)
Swiss 3T3 cells	Natural contact in monolayer	SP : 1.6 kV/cm , 100 μs, 5 pulses	Teissie *et al.*(1982)
Unilamellar liposome	AC: 200-400 V/cm ,100 kHz	SP : 3-9 kV/cm , 20 - 50 μs	Buschl *et al.*(1982)
Mouse myeloma cells SP2 and X63	AC: 200 V/cm, 800 kHz	SP : 2.5 kV/cm , 20 μs	Vienken *et al.*(1983)
Mouse myeloma cells x splenic B lymphocytes	Biotin-avidin antigen-antibody cross-link	SP : 4 kV/cm, 5 μs ,4 pulses	Lo *et al.*(1984)

ชนิดของเซลล์	การเรียงตัวของเซลล์	การรวมตัวโดยใช้พัลส์	อ้างอิง
Mouse LM fibroblast x hamster CHO cells	Natural contact in monolayer	SP : 1.5 kV/cm, 50 μs , 5 pulses	Finaz *et al.*(1984)
L5178Y mouse leukemic lymphoblasts	AC: 800 V/cm, 100 kHz	SP : 5-8 kV/cm , 20 μs , 4 pulses	Ohno-Shosaku and Okada (1984)
Human erythrocyte ghosts	AC: 70-150 V/cm ,100 kHz	EP: 500-700 V/cm 0.2 - 1.2 ms	Sower (1984)
L5178Y mouse lymphoma cells	AC: 800 V/cm, 100 kHz	SP : 5-8 kV/cm , 20 μs , 4 pulses	Okada *et al.*(1984)
Primary Leydig cells x primary adrenocortical cells	AC: 200-250 V/cm, 650 kHz	SP : 3.75 kV/cm , 15 μs , 9 pulses	Podesta *et al.*(1984)
Humamn lymphoblasts x mouse lymphoblasts	AC: 800 V/cm, 100 kHz	SP : 3.3 kV/cm or 5.0 kV/cm ,20 μs , 2 pulses	Ohno-Shosaku *et al.* (1984)
Mouse myeloma cells x mouse B lymphocytes for mAb to cytokeratin	AC: 1.2 kV/cm, 100 kHz	SP : 4.2 kV/cm 3 μs, 1 pulses	Karsten *et al.*(1985)
Mouse myeloma cells x mouse B lymphocytes	AC: 250 V/cm, 1.5 MHz	SP : 3.5 kV/cm 20 μs, 3 pulses	Vienken and Zimmermann (1985)
Mouse blastomeres and embryos	Natural contact	SP: 1 kV/cm 250 μs, 2 pulses	Kubiak and Tarkowski (1985)
Human UC729-6 cells x human lymphocytes	AC: 430 V/cm, 1 MHz	SP : 7.7 kV/cm 20 μs	Glassy and Hofmann (1985)

ชนิดของเซลล์	การเรียงตัวของเซลล์	การรวมตัวโดยใช้พัลส์	อ้างอิง
Human myeloma x spleen cells	AC: 1 kV/cm 1 MHz	SP : 4 kV/cm 5 μs, 1 pulse	Abel *et al.* (1987)
Mutjac cells x V79-S181 cellls	AC: 220 V/cm 1.7 MHz	SP: 5 kV/cm 15 μs, 2 train of 3 pulses	Bertsche *et al.*(1988)
Human lymphoma x rabbit corneal epithelium	Mechnical pressure	SP : 20 V, 20 μs , 3 pulses	Grasso *et al.* (1989)
IBRS-2	Natural contact	SP: 1.7 kV/cm 20 μs, 4 pulses	Zheng and Zhao (1989)
Human B lymphocytes x mouse-human heteromyeloma (K_6H_6/B5)	AC: 300 V/cm 1 MHz, 30 s	SP: 1 kV/cm 15 μs, 3 pulse	Foung *et al.* (1990)
Mouse myeloma x mouse lymphocytes	Machanical pressure (centrifuge)	AC: 10 kHz , 9-10 kV/cm 0.3 ms , 1 pulse	Takahashi *et al.* (1991)
2. โปรโตรพาสต์ของพืช			
Vicia faba protoplast	AC: 250 -500 V/cm , 500 kHz	SP : 3.5 kV/cm 20 μs	Zimmermann and Scheurich (1981)
Nicotina tabacum, Hordeum vulgare, lycopersion exculertum	AC : 150 V/cm, 1.2 MHz	SP: 1.7 kV/cm, 25 μs	Jocob *et al.* (1983)
Nicotina tabacum,	AC : 120 V/cm, 1 MHz	SP: 1.5 kV/cm, 50 μs	Koop *et al.*(1983)
Oat, corn, vigna, *pernia and amaranthus* protoplast	AC: 200 V/cm, 500 kHz	SP: 700 V/cm, 10-50 μs , 2 pulse	Bates *et al.* (1983)

ชนิดของเซลล์	การเรียงตัวของเซลล์	การรวมตัวโดยใช้พัลส์	อ้างอิง
Nicotina tabacum x N. piumbaginitolia	AC: 20-80 V/cm, 500 kHz	EP: 500 V/cm, 1 ms	Watts and king (1984)
NIcotina tabacum, Acer pseudoplantanus, Catharanthus roseus	Spermine-mediated agglutination	SP: 1.5 kV/cm, 100 μs, 4 pulses	Chapel *et al.* (1984)
Nicotina tabacum x N. piumbaginitolia	AC : 150 V/cm, 600 kHz	SP: 1 kV/cm, 50 μs 2 pulses	Bates and Hasenkampt (1985)
Pysscomitrella patens	AC : 20 V/cm, 500 kHz	EP: 800 V/cm, 1 ms	Watts *et al.* (1985)
Nicotina tabacum	AC : 200 V/cm, 0.9 MHz	SP: 1.2-1.5 kV/cm , 50 μs	Kohn *et al.* (1985)
Nicotina tabacum	AC : 150 V/cm, 1 MHz, 60-90s	SP: 500 kV/cm 55 μs , 1 pulse	Naton *et al.* (1985)
Nicotina glauca x N. langdorffi	High-density gravity	EP: 1 kV/cm, 100-200 μs	Morikawa *et al.* (1986) cited by Chang,(1992)
Brassica napus L. protoplast and subprotoplasts	AC : 60-80 V/cm ,1 MHz	EP: 0.9-1.8 kV/cm , 50 μs , 1-5 pulses	Spangenberg and Schweiger (1986) cited by Chang, (1992)
Solanum brevidens protoplasts	AC : 200 V/cm	SP: 1 -2 kV/cm 10-160 μs	Tempelaar *et al.* (1987)
Brassica olracea C. x Brassica compestris p.	AC : 100-150 V/cm ,1 MHz	EP: 1.5 kV/cm ,500 μs , 3 pulses	Zheng *et al.* (1988) cited by Chang, (1992)

ชนิดของเซลล์	การเรียงตัวของเซลล์	การรวมตัวโดยใช้พัลส์	อ้างอิง
Albino protoplasts	AC : 28-35 V/cm 1 MHz	EP: 1.4 - 2.0 kV/cm 50 μs , several pulses	Eigel *et al.* (1991)
3. จุลชีพ			
E.coli, Salmonella typhimurium spheroplasts	AC : 1 kV/cm ,1 MHz	SP: 4 kV/cm, 15 μs , 5 pulses	Ruthe and Adler (1985)
Bacillus thuringiensis protoplasts	PEG-induced agglutination	EP: 14-20 kV/cm ,5 μs , 3 pulses	Shivarova and Grigorava (1983) cited by Chang, (1992)
Saccharomyces cerevisiae	AC: 1kV/cm, 800 kHz	SP: 10 kV/cm, 10 μs	Schnettler *et al.* (1984)
Saccharomyces cerevisiae	AC: 400 V/cm, 1 MHz	SP: 7 kV/cm, 60 μs, 2 pulses	Noda *et al.* (1990)
Schizosaccharomyces pombe	AC: 500 V/cm, 1.5 MHz	SP: 5 kV/cm, 10 μs	Vondrejs *et al.* (1990)
4. เซลล์ชนิดอื่นๆ			
Dictyostelium cells	High density	EP: 4-6 kV/cm ,40 μs , 3 pulses	Neumann *et al.* (1980) cited by Chang, (1992)
Sea urchin eggs	AC: 100-220 V/cm, 0.5-2 MHz	SP: 400 V/cm, 50-400 μs	Richter *et al.* (1981) cited by Chang, (1992)

หมายเหตุ AC: สัญญาณคลื่นรูปไซน์ (Alternating current)
EP: สัญญาณคลื่นรูปพัลส์ที่ลดลงแบบเอกซ์โปเนนเชียล (Exponentially decaying pulse)
SP: สัญญาณคลื่นรูปพัลส์แบบสี่เหลี่ยม (Square wave pulse)

จากตัวอย่างการหลอมเซลล์ในตารางที่ 1.1 การหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้าจะเกิดขึ้นได้เมื่อเซลล์จะมาเรียงหรือเกาะกลุ่มกันก่อน หลังจากนั้นจึงกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้าเพื่อทำให้เซลล์หลอมรวมกัน สำหรับเซลล์บางชนิดเซลล์จะเกาะติดกันได้เองตามธรรมชาติเช่น เซลล์ของ Mouse LM fibroblast กับ Hamster CHO cells, Mouse blastomere กับ Embryo เป็นต้น นอกจากนี้การทำให้เซลล์เข้ามาเรียงหรือเกาะกลุ่มกันโดยการกระตุ้นจากภายนอก สามารถทำได้อีก 2 แบบ คือ

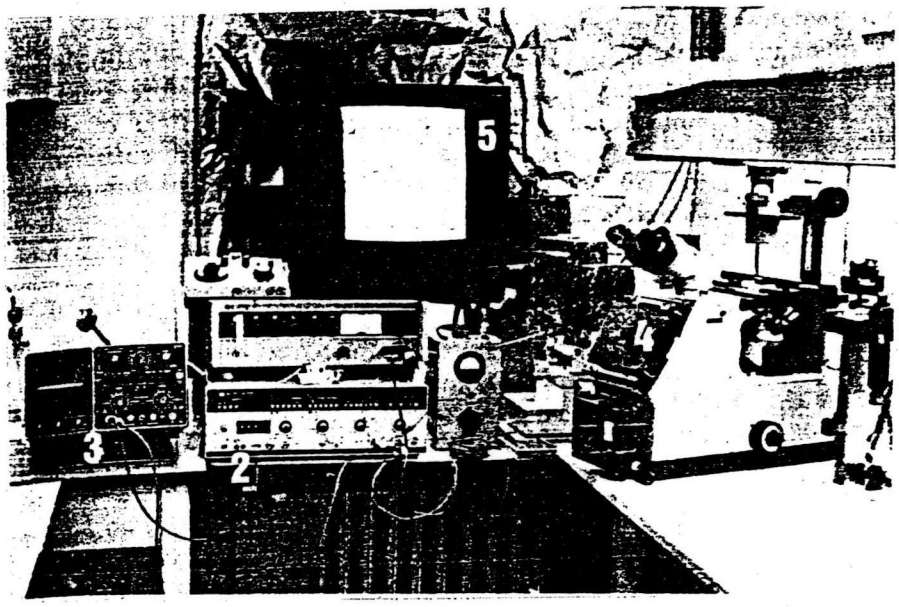
1 การใช้เทคนิคการตกตะกอน (Macro-technique with agglutination) เป็นการทำให้เซลล์ที่อยู่ในสารแขวนลอยเซลล์มาเกาะกลุ่มกันก่อน เช่น ใช้เครื่องปั่นทำให้เซลล์มะเร็งต่อมน้ำเหลืองกับเซลล์เนื้อเยื่อตากระต่าย(Human lymphoma x rabbit corneal epithelium) ตกตะกอน, การใช้สารโพลีแอททิลลีนไกลคอล (PEG) กระตุ้น B.*thuringiensis* ให้มาเกาะกลุ่มกันก่อน หรือการใช้สารสเปอร์มีน (Spermine) กระตุ้น N. *tabacum* เป็นต้น

2 การกระตุ้นโดยใช้สัญญาณคลื่นรูปไซน์(Micro-technique with dielectrophoresis) เป็นวิธีที่จะกระตุ้นให้เซลล์เข้ามาเรียงกันก่อนโดยใช้สัญญาณคลื่นรูปไซน์หลังจากนั้นจึงกระตุ้นด้วยสัญญาณคลื่นรูปพัลส์ เช่นการกระตุ้นของเซลล์มะเร็งหนูกับเซลล์ลิมโฟซัยต์หนู (Mouse myeloma cells x mouse B lymphocytes) ให้มาเรียงกันก่อน โดยใช้คลื่นรูปไซน์ความถี่ 1.5 MHz และสนามไฟฟ้า 250 V/cm ซึ่งเทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่นิยมกันมากในปัจจุบัน ดังจะเห็นได้จากรายงานการหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้าในตารางที่ 1.1 ซึ่งข้อดีของวิธีนี้ คือ การที่เซลล์มาเรียงติดกันเป็นแถว(Pearl chain) แล้วจึงทำการกระตุ้นให้เซลล์หลอมกันได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่ต้องทำการเปลี่ยนสารละลายที่ใช้สำหรับหลอมเซลล์

จากการพิจารณาวิธีการหลอมเซลล์ทั้ง 2 วิธีนั้น การใช้สารเคมีหรือการปั่นเพื่อให้เซลล์เข้ามาเกาะกลุ่มกันก่อนนั้นจะทำให้ยุ่งยากในการทำ การใช้คลื่นสัญญาณรูปไซน์มาช่วยทำให้เซลล์เรียงกันจะทำได้สะดวกกว่า

ในการหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้า ส่วนที่สำคัญที่จะทำให้เซลล์หลอมกันได้คือเครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้า เครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้าจะมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ ส่วนกำเนิดสัญญาณ

คลื่นรูปไซน์, ส่วนสร้างสัญญาณพัลส์, ส่วนขยายภาพและห้องบรรจุเซลล์ เมื่อนำมาประกอบรวมกันแล้วจะได้เครื่องหลอมเซลล์ดังตัวอย่างในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 ตัวอย่างระบบเครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้า [Kohn et al., 1985] ประกอบด้วยส่วนต่าง ๆดังนี้คือ 1. เครื่องกำเนิดสัญญาณคลื่นรูปไซน์ 2. เครื่องกำเนิดสัญญาณคลื่นรูปพัลส์ 3. เครื่องออสซิลโลสโคป 4. กล้องจุลทรรศน์ 5. จอภาพที่รับสัญญาณภาพขยายผ่านกล้องจุลทรรศน์

เครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้าได้มีการผลิตเพื่อจำหน่ายแล้วในต่างประเทศ และมีราคาหลายแสนบาท จากการสืบค้นข้อมูลภายในประเทศยังไม่ปรากฏว่ามีการประดิษฐ์เครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้า ในงานวิจัยนี้จะทำการประดิษฐ์เครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้าขึ้นเพื่อใช้ในการหลอมเซลล์ ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่างานวิจัยนี้จะเป็นจุดเริ่มต้นของการประดิษฐ์เครื่องหลอมเซลล์ อันจะเป็นพื้นฐานในการพัฒนาเครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้าเครื่องต่อไป

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ประดิษฐ์เครื่องหลอมเซลล์ที่มีราคาถูกขึ้นใช้เองภายในประเทศ
2. ศึกษาปัจจัยทางชีวเคมีของสารละลายสำหรับหลอมเซลล์ต่อการหลอมเซลล์
3. ศึกษาปัจจัยทางไฟฟ้าต่อการหลอมเซลล์

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

1. ศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
2. ออกแบบระบบเครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้า
3. ออกแบบและประดิษฐ์ห้องบรรจุเซลล์
4. ศึกษาปัจจัยทางชีวเคมีของสารละลายที่จะนำมาใช้ในการหลอมเซลล์
5. ศึกษาปัจจัยทางไฟฟ้า เช่น สนามไฟฟ้า ความถี่ ระยะเวลาที่ให้สนามไฟฟ้าต่อการหลอมเซลล์
6. สรุป