

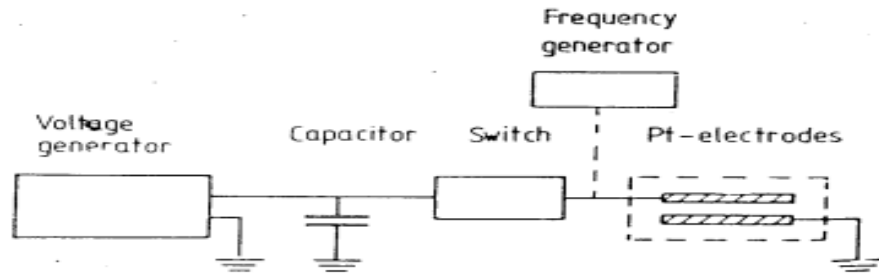
การหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้า (Electrofusion)

วรพันธ์ บุญชัย*

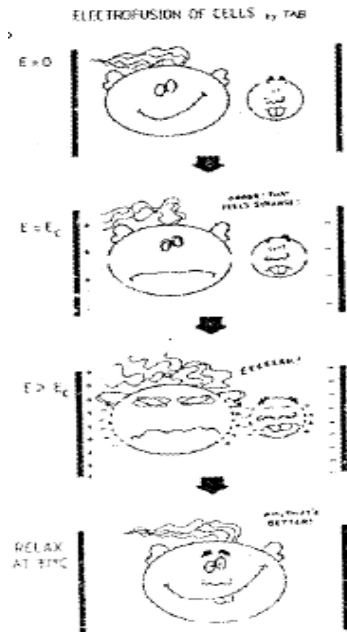
*โปรแกรมวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏ
บ้านสมเด็จเจ้าพระยา 1061 ถนนอิสรภาพ แขวงหิรัญรูจี เขตธนบุรี กรุงเทพฯ 10600

เครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้าได้ถูกนำมาใช้ในงานวิจัยทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต โดยเหนี่ยวนำให้เซลล์สองเซลล์มารวมตัวกัน (cell fusion) Zimmermann และ Vienken (1982) ได้ประดิษฐ์เครื่องมือที่เรียกว่า cell fusion system (ภาพที่ 1) เพื่อใช้ในการหลอมเซลล์โดยการเหนี่ยวนำด้วยกระแสไฟฟ้าที่เรียกว่าอิเล็กโทรฟิวชัน (electrofusion) ซึ่งอาศัยหลักการที่ว่าสนามไฟฟ้าเพิ่มความสามารถในการนำไฟฟ้า และสภาพให้ซึมผ่านได้ของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งควบคุมและทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนสารและข้อมูลระหว่างเซลล์กับสิ่งแวดล้อม ถ้าเยื่อหุ้มเซลล์สัมผัสกับสนามไฟฟ้าที่เป็นจังหวะ (field pulse) ความ

เข้มข้นสูงเวลาสั้นๆ เช่น $1/10^9$ หรือ $1/10^6$ วินาที จะเกิดการแตกสลาย โดยกระแสไฟฟ้ามีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาพให้ซึมผ่านได้ของเยื่อหุ้มเซลล์อย่างมาก ทำให้อนุภาคที่มีขนาดใหญ่เท่าๆ กับขนาดของยีนต่างๆ ที่ปกติไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปในเซลล์ได้ และเยื่อหุ้มเซลล์นั้นจะกลับไปเป็นอย่างเดิมภายในเวลาหนึ่งในล้านของวินาทีหรือนาทีขึ้นอยู่กับสถานะและสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ ถ้าเยื่อหุ้มเซลล์ที่บริเวณที่สัมผัสระหว่างเซลล์เกิดแตกสลายด้วยไฟฟ้า เยื่อหุ้มเซลล์จะเกาะติดกันโดยสนามไฟฟ้าอ่อนๆ ที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่สม่ำเสมอ ทำให้เกิดการหลอมรวมเซลล์เหล่านั้นสร้างเป็นเซลล์เดี่ยว (ภาพที่ 2)

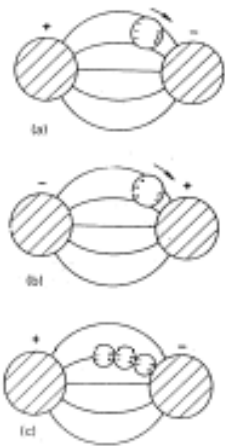


ภาพที่ 1. ระบบเครื่องหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้า
ที่มา : (Zimmermann, 1983)

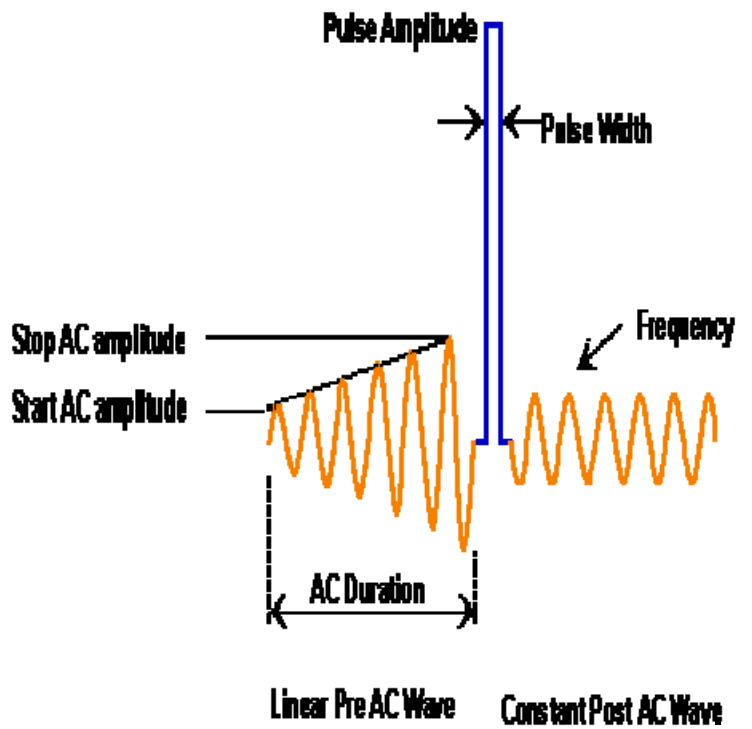


ภาพที่ 2. กระบวนการหลอมเซลล์ด้วยไฟฟ้า
ที่มา : (Zimmermann, 1983)

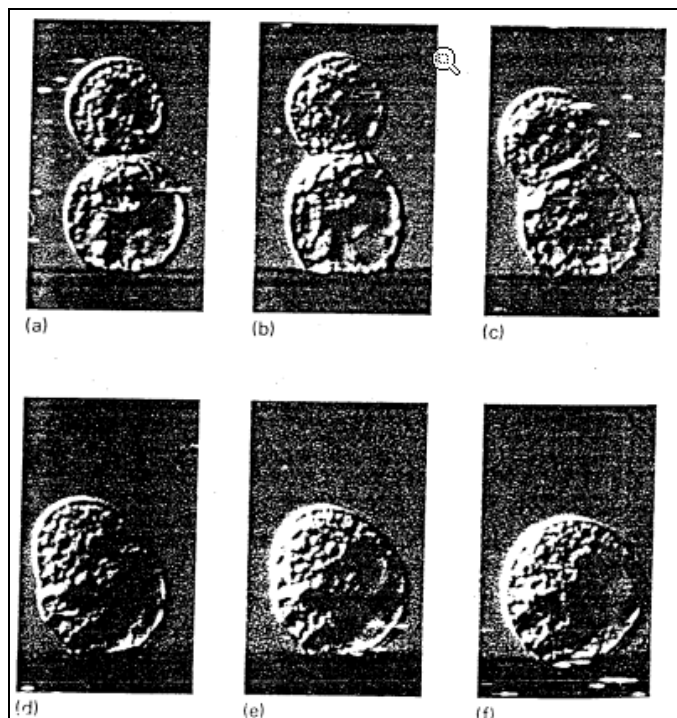
การหลอมรวมกันของเซลล์ด้วยไฟฟ้านี้ไม่รุนแรงและทำให้เซลล์มีการหลอมรวมกันได้มาก ซึ่งอาศัยหลักการของไดอิเล็กโตรโฟรีซิส (dielectrophoresis) โดยใช้สนามไฟฟ้ากระแสสลับที่ไม่สม่ำเสมอ (non-homogeneous AC electric field) ทำให้เซลล์มี 2 ขั้ว และเป็นสายคล้ายสายไข่มุก (pearl chaining) (ภาพที่ 3) สนามไฟฟ้ากระแสสลับทำให้เกิดการแพร่ไปด้านข้างของโปรตีนที่เชื่อมหุ้มเซลล์ สร้างบริเวณที่ไม่มีโปรตีนบนผิวของเซลล์ที่อยู่ติดกัน เมื่อเชื่อมหุ้มเซลล์แตกแล้วจึงใช้กระแสตรง (DC voltage) ที่เหมาะสมผ่านเข้าไปเป็นจังหวะๆ (ภาพที่ 4) ซึ่งมีผลทำให้เชื่อมหุ้มเซลล์เปลี่ยนแปลง โดยไอออนที่อยู่ทั้งสองด้านของเชื่อมหุ้มเซลล์ช่วยทำให้เกิดช่องที่เชื่อมหุ้มเซลล์ โดยเฉพาะบริเวณที่เชื่อมหุ้มเซลล์ใกล้กันสัมผัสกันทำให้ไซโทพลาสซึมรวมกันกลายเป็นโครงสร้างรูปร่างกลมเดี่ยว ซึ่งประกอบด้วยนิวเคลียสและไซโทพลาสซึมของเซลล์ที่หลอมรวมกัน (ภาพที่ 5 และ 6)



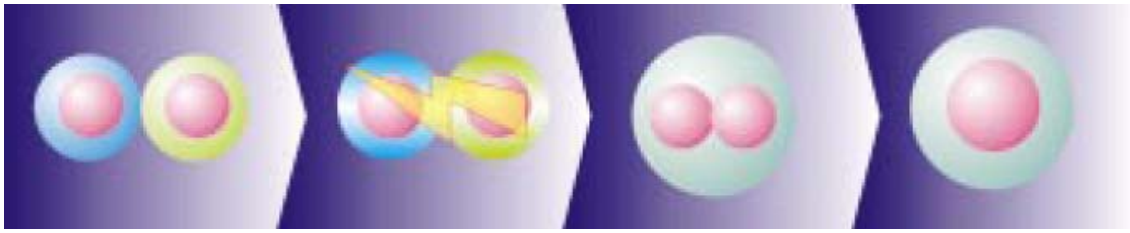
ภาพที่ 3. ปรากฏการณ์ไดอิเล็กทริก
โทรโพริซิสของเซลล์
ภายใต้กระแสไฟฟ้าสลับ
ที่มา : (Zimmermann, 1983)



ภาพที่ 4. คลื่นกระแสไฟฟ้าสลับกระแสไฟฟ้าตรง



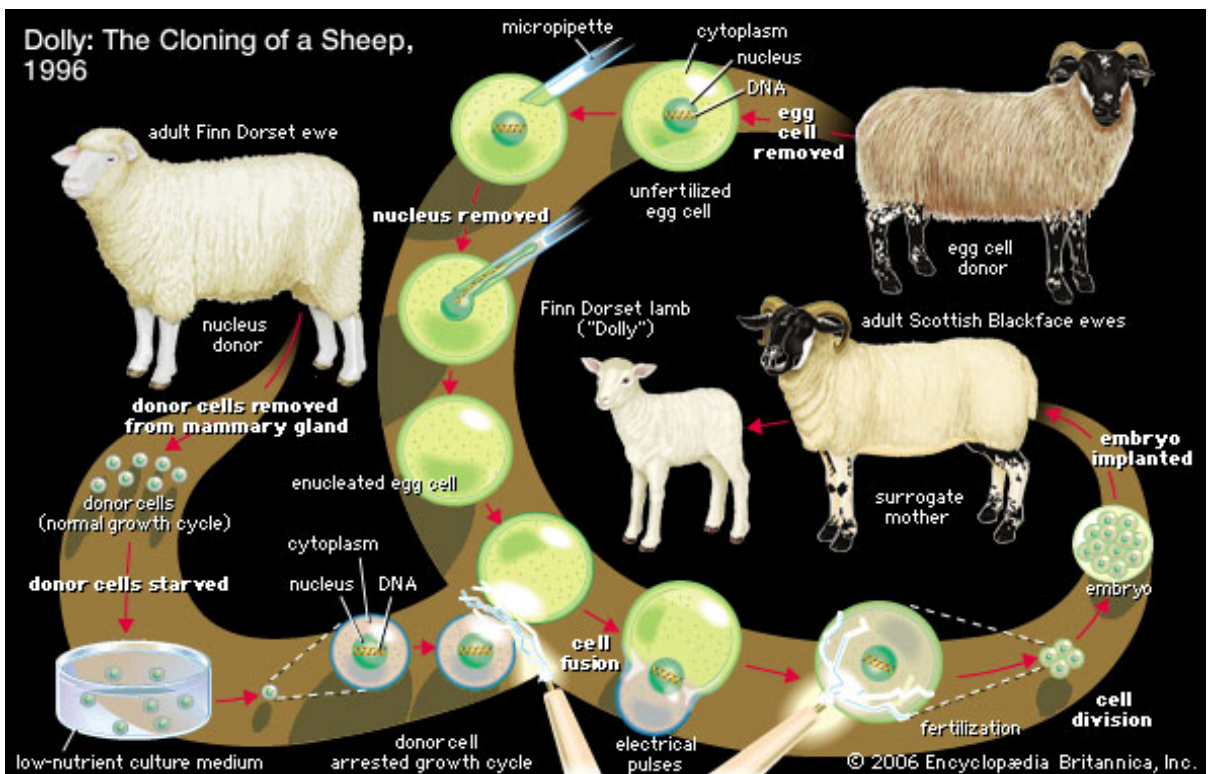
ภาพที่ 5. การหลอมเซลล์ภายใต้กระแสไฟฟ้าตรง
ที่มา : (Zimmermann, 1983)



ภาพที่ 6. การหลอมรวมของเซลล์ 2 เซลล์กลายเป็นเซลล์เดียว

การหลอมเซลล์สามารถใช้กับเซลล์ได้ทุกชนิด แต่ถ้าเซลล์มีผนังเซลล์ (cell wall) จะต้องย่อยผนังเซลล์ออกก่อนจึงจะทำการหลอมเซลล์ด้วยกระแสไฟฟ้า ประโยชน์ของการหลอมเซลล์ด้วย

ไฟฟ้าที่เห็นได้ชัดเจนคือ ในกระบวนการโคลนนิ่ง (cloning) แกะดอลลี่ในขั้นตอนการนำนิวเคลียสมารวมกับเซลล์ไข่ถูกเหนี่ยวนำโดยกระแสไฟฟ้า (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7. กระบวนการโคลนนิ่งแกะดอลลี่

กระแสไฟฟ้าและเวลาที่เหมาะสมต่อการหลอมเซลล์ เข้าด้วยกันของเซลล์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน

เซลล์ยีสต์



Pre-alignment 5-8 โวลต์ ประมาณ 30 วินาที

Pulse 200 -240 โวลต์ ประมาณ 10 -15 ไมโครวินาที จำนวน 2 ครั้ง

Post-alignment 5-8 โวลต์ ประมาณ 30 วินาที

เซลล์พืช



Pre-alignment 7.5 โวลต์ ประมาณ 40 วินาที

Pulse 170 โวลต์ ประมาณ 25 ไมโครวินาที จำนวน 2 ครั้ง

Post-alignment 7.5 โวลต์ ประมาณ 40 วินาที

เซลล์สัตว์



Pre-alignment 5 โวลต์ ประมาณ 30 วินาที

Pulse 20-30 โวลต์ ประมาณ 15 ไมโครวินาที จำนวน 1-2 ครั้ง

Post-alignment 5 โวลต์ ประมาณ 30 วินาที

อย่างไรก็ตามกระแสไฟฟ้าและเวลาที่ใช้เพื่อ
การหลอมเซลล์แต่ละชนิดต้องมีการทดลองเพื่อ
หาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเซลล์แต่ละชนิด
เพราะเซลล์พืช เซลล์สัตว์ และเซลล์ยีสต์ ต่างก็มี
หลากหลายสายพันธุ์ สภาวะข้างต้นเป็นเพียง
แนวทางเพื่อให้การทดลองทำได้ง่ายและรวดเร็ว
ขึ้นสำหรับนักวิจัยที่เพิ่งเริ่มทำการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- สาวิตรี ลิ้มทอง. (2549). ยีสต์ : ความหลากหลาย
และเทคโนโลยีชีวภาพ. กรุงเทพฯ:
สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
Zimmermann, U. (1983). **Trend in**
Biotechnology 1(5): 149-155.
www.eppendorf.com