

ทักษิณีย์ คำมานิตย์ 2550: ผลของการลดซีรั่ม การเลี้ยงเซลล์ให้เจริญเต็มพื้นที่และสารเคมี
ต่อวงจรชีวิตเซลล์ของเซลล์ไฟโบรบลาสตผิวหนังสุนัข. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
(กายวิภาคศาสตร์ทางสัตวแพทย์) สาขากายวิภาคศาสตร์ทางสัตวแพทย์ ภาควิชากายวิภาค
ศาสตร์ ปรธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิงศิริรักษ์ จันทกรู,
Ph.D. 79 หน้า

วงจรชีวิตเซลล์ของเซลล์ต้นแบบและวิธีการในการเหนี่ยวนำให้เซลล์อยู่ในระยะเดียวกันเป็น
ปัจจัยสำคัญ และมีผลต่อความสำเร็จของการโคลนนิ่งสุนัข วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อการศึกษา
ผลของการเหนี่ยวนำให้เซลล์ dermal fibroblast ของสุนัขให้อยู่ในระยะเดียวกันของวงจรชีวิตเซลล์ โดย
การเลี้ยงเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงที่ลดซีรั่ม (serum starvation) เลี้ยงให้เซลล์เจริญจนเต็มพื้นที่ (culture to
confluence) และการใช้สารเคมี (chemical inhibitor) ได้แก่ roscovitine, aphidicolin และ colcemid เก็บ
ตัวอย่างผิวหนังบริเวณหน้าท้องจากสุนัขในระหว่างการทำหมัน แล้วแยก dermal fibroblast ออกจาก
ผิวหนัง แล้วเลี้ยงเซลล์ในน้ำยาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนและใช้ในการทดลองระหว่าง passages 2 ถึง 6
ผลการทดลองพบว่า การเลี้ยงเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงที่ลดซีรั่ม (0.5% fetal bovine serum) เป็นเวลา 24, 48
และ 72 ชั่วโมง สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์อยู่ในระยะ G0/G1 เท่ากับ 88.4 ± 1.3 , 90.9 ± 1.4 และ 90.3 ± 2.2
ตามลำดับ ซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (73.6 ± 3.5 เปอร์เซ็นต์) และ
ใกล้เคียงกับการเลี้ยงให้เซลล์เจริญจนเต็มพื้นที่ (91.7 ± 3.5 เปอร์เซ็นต์) การเลี้ยงเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงที่มี
roscovitine พบว่าไม่สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ของเซลล์ในระยะ G0/G1 ได้ แต่กลับเพิ่มเปอร์เซ็นต์การตาย
ของเซลล์เมื่อใช้ roscovitine ที่ความเข้มข้น 30 μM และ 45 μM (11.0 ± 11.0 และ 16.2 ± 12.4
ตามลำดับ) การใช้ aphidicolin สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์เข้าสู่ระยะ G1/S ได้ ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่
ใช้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ aphidicolin เปอร์เซ็นต์ของเซลล์ที่เข้าสู่ระยะ G1/S จะเพิ่มขึ้นโดยไม่เพิ่ม
เปอร์เซ็นต์การตายของเซลล์ การใช้ colcemid ที่มีความเข้มข้น 0.1 $\mu\text{g/ml}$ สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์เข้า
สู่ระยะ G2/M เพิ่มขึ้นเป็น 38.5 ± 8.7 เปอร์เซ็นต์ ขณะเดียวกันเปอร์เซ็นต์ของเซลล์ในระยะ G0/G1 กลับ
ลดลง (51.4 ± 8.2 เปอร์เซ็นต์) อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ colcemid มากกว่า 0.1 $\mu\text{g/ml}$ กลับ
ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์เข้าสู่ระยะ G2/M เพิ่มขึ้น ผลการทดลองนี้ชี้ว่า สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์
dermal fibroblast ของสุนัขให้อยู่ในระยะเดียวกันของวงจรชีวิตเซลล์ได้ ซึ่งจะมีประโยชน์มากในการทำ
การทดลองการโคลนนิ่งสุนัข