

เซลล์ไลน์ชนิดใหม่ KMITL-HA-E1 สร้างจากเนื้อเยื่อตัวอ่อนของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน *Helicoverpa armigera* (Hubner) โดยเพาะเลี้ยงในอาหารชนิดเกรซที่เสริมด้วยซีรัม 20 % และบ่มที่อุณหภูมิ 28 ° ซ หลังจากปลูกเนื้อเยื่อได้นาน 107 วัน จึงทำการถ่ายเซลล์เป็นครั้งแรก และบัดนี้ (เดือนพฤษภาคม 2546) ได้ถ่ายเซลล์มาแล้ว 80 พาสเสจ (passage) อย่างไรก็ตามการถ่ายเซลล์จากพาสเสจ (passage) ที่ 7 ถึงพาสเสจ (passage) ที่ 33 ได้ปรับเปลี่ยนมาเพาะเลี้ยงในอาหารชนิดเกรซที่เสริมด้วยซีรัม 10 % หลังจากถ่ายเซลล์พาสเสจ (passage) ที่ 33 เป็นต้นมาได้นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารชนิด TC-100 ซึ่งเสริมด้วยซีรัม 10 % กลุ่มเซลล์เริ่มแรกประกอบด้วยเซลล์ที่มีรูปร่าง 4 แบบ คือ fibroblast-like cells, epithelial-like cells, myoblast-like cells และ companion cells อย่างไรก็ตามพบว่าเซลล์ไลน์พาสเสจ (passage) ที่ 2 ประกอบด้วยเซลล์ที่มีรูปร่าง 2 แบบ คือ fibroblast-like cells และ epithelial-like cells เซลล์ไลน์ KMITL-HA-E1 พาสเสจ (passage) ที่ 49, 60 และ 79 มีช่วงเวลาที่เซลล์เพิ่มปริมาณเป็นสองเท่าอยู่ที่ 55.43, 60.92 และ 40.82 ชั่วโมง ตามลำดับ จำนวนโครโมโซมของเซลล์เพาะเลี้ยงอยู่ในช่วง 48 ถึง 228 โครโมโซม สำหรับรูปแบบไอโซไซม์ของเซลล์ไลน์ เอนไซม์ที่ใช้เป็นตัวกำหนด คือ เอนไซม์ esterase, malate dehydrogenase และ glucose-6-phosphate dehydrogenase ซึ่งมีรูปแบบที่สอดคล้องกันกับระยะหนอนของแมลงชนิดเดียวกันกับที่นำมาใช้สร้างกลุ่มเซลล์เริ่มแรก พบว่าเซลล์ไลน์มีความอ่อนแอต่อการติดเชื้อไวรัสโรคแมลงบางชนิด ได้แก่ *Euxca scandens* cytoplasmic polyhedrosis virus (*EsCPV*), *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus (*AcMNPV*) และ *Galleria mellonella* multiple nucleopolyhedrovirus (*GmMNPV*) จากการทดสอบความเป็นพิษของผลึก delta-endotoxins จาก *Bacillus thuringiensis* สูตรต่าง ๆ (Thuricide<sup>®</sup>, Teknar-HPD<sup>®</sup> และ Trident<sup>®</sup>), destruxins (สารพิษจากเชื้อรา *Metarrhizium anisopliae*) และสารปฏิชีวนะแอคติโนมัยซิน-ดี ที่มีต่อเซลล์ไลน์ ผลที่ได้คือเซลล์ไลน์มีความไวต่อพิษของสารปฏิชีวนะแอคติโนมัยซิน-ดี (TCTD<sub>50</sub> = 0.013 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และสารพิษจากเชื้อรา (TCTD<sub>50</sub> = 0.287 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ได้ดีที่สุดในลำดับแรก และผลที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับสารพิษที่ได้จาก Thuricide<sup>®</sup> (TCTD<sub>50</sub> = 2.987 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), Teknar-HPD<sup>®</sup> (TCTD<sub>50</sub> = 13.060 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ Trident<sup>®</sup> (TCTD<sub>50</sub> = 26.753 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

## TE 149610

A new cell line, KMITL-HA-E1, was established from the embryonic tissue of the American cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner). The tissues were seeded in Grace's medium supplemented with 20 % fetal bovine serum and incubated at 28 °C. The first subcultures was obtained after explanting for 107 days and 80 passages have been made to date (May 2003). However, the subcultures from the 7<sup>th</sup> to the 33<sup>rd</sup> passage, were adapted to Grace's medium with 10% fetal bovine serum. After the 33<sup>rd</sup> passage, the subcultures were seeded in TC-100 medium with 10% fetal bovine serum. Primary culture consisted of four major morphologic types of fibroblast-like cells, epithelial-like cells, myoblast-like cells and companion cells. However, the second passage consisted of two morphologic types of fibroblast-like cells and epithelial-like cells. The continuous cell line of KMITL-HA-E1 at the 49<sup>th</sup>, 60<sup>th</sup> and 79<sup>th</sup> passages showed population doubling time at 55.43, 60.92 and 40.82 hours, respectively. The chromosome number of cultured cells ranged from 48 to 228. The cell line isozymatic profiles were determined by esterase, malate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase systems, coinciding with the larvae of the species taken from the same colony. The cell line was found to be susceptible to some insect viruses such as *Euxoa scandens* cytoplasmic polyhedrosis virus (*EsCPV*), *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus (*AcMNPV*) and *Galleria mellonella* multiple nucleopolyhedrovirus (*GmMNPV*). The cytotoxicity of solubilized crystal delta-endotoxins from different *Bacillus thuringiensis* formulations (Thuricide<sup>®</sup>, Teknar-HPD<sup>®</sup> and Trident<sup>®</sup>), destruxins (mycotoxins from *Metarrhizium anisopliae*) and actinomycin-D antibiotic was tested on this cell line. The result showed that the cell line was highly sensitive to actinomycin-D (TCTD<sub>50</sub> = 0.013 µg/ml) and fungal toxin (TCTD<sub>50</sub> = 0.287 µg/ml) and high significantly different to Thuricide<sup>®</sup> (TCTD<sub>50</sub> = 2.987 µg/ml), Teknar-HPD<sup>®</sup> (TCTD<sub>50</sub> = 13.060 µg/ml) and Trident<sup>®</sup> (TCTD<sub>50</sub> = 26.753 µg/ml).