195209

แผ่นไหมที่มีความหนาตั้งแต่ 1-4 ชั้น (80-441 ไมโครเมตร) สามารถเตรียมได้โดยให้หนอนไหมพันธุ์ไทยพื้นเมือง (นางลาย) พ่นเส้นใยลงบนแผ่นกระจกผิวเรียบ แผ่นไหมที่มีความหนา 1, 2, 3 และ 4 ชั้นนี้จะมีรูพรุนที่มีขนาด 73, 47, 30 และ 24 ไมโครเมตร ตามลำดับ หลังจากการกำจัดเซริซินและทำให้ปราศจากเชื้อแล้ว แผ่นไหมทั้งสี่แบบสามารถนำไปใช้เป็นวัสดุค้ำจุนในการเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสผิวหนังมนุษย์ ทั้งโดยวิธีการเริ่มเลี้ยงด้วยเซลล์อิสระและเซลล์ที่เจริญเป็นแผ่นแล้ว ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลาสูงสุด 28 วัน เมื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการใช้แผ่นไหมเป็นวัสดุค้ำจุนสำหรับเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสผิวหนังมนุษย์ทั้งสองกรณีพบว่า แผ่นไหมทุกแบบมีอัตราการเกาะติดของเซลล์ประมาณร้อยละ 60 เซลล์ที่เกาะติดกับวัสดุมีอัตรารอดสูงกว่าร้อยละ 90 และสามารถสร้างคอลลาเจนและไกลโคอะมิโนไกลแคนได้ที่ระดับ 13 และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่า เซลล์มีการสร้างโปรตีนและพัฒนาไปเป็นส่วนยึดเกาะกับวัสดุได้เป็นอย่างดี ความแข็งแรงของวัสดุค้ำจุนที่มีเซลล์ยึดเกาะแล้วมีค่าอยู่ในช่วงที่สอดคล้องกับความแข็งแรงของผิวหนังมนุษย์ ผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่า เซลล์ไฟโบรบลาสผิวหนังมนุษย์ สามารถเจริญและเข้ากันได้เป็นอย่างดีกับแผ่นไหมที่ใช้เป็นวัสดุค้ำจุนสำหรับการเลี้ยงเซลล์ ซึ่งเป็นแนวทางสำคัญที่จะนำไปสู่การวิจัยและพัฒนาเพื่อประยุกต์ใช้เส้นไหมพันธุ์ไทยพื้นเมือง ให้เป็นวัสดุค้ำจุนสำหรับการวิศวกรรมเนื้อเยื่อผิวหนังของมนุษย์ต่อไป

195209

Non-woven silk sheets, one to four layers, were fabricated directly by one to four fifth instar larvae of Thai local variety silkworm (Nang-lai) on the smooth glass plate. The sheets were with the thickness ranging from 80-441 μm, and the pore sizes were 73, 47, 30 and 24 μm, respectively. After removal of sericin and sterilization, all types of silk fibroin (SF) sheets were seeded with separated cells or cell sheet of human dermal fibroblasts (HDFs) and cultured in medium up to 28 days. Analysis of utilizing those all types SF sheets as scaffolds showed that approximately 60% of HDFs adhered with the scaffolds and the survival rates of cells at 24 hours after adhesion were over 90%. Thirteen μg/ml of collagen and five μg/ml of glycosaminoglycan were also detected in the culture medium. The SEM study revealed that cell processes were synthesized and attached to SF scaffolds. The strength of SF scaffold with fully-grown HDF cells was in accordance with the strength of human skin. The results suggested that SF scaffold was well compatible with HDF. It is promising that Thai local variety silk could be applied as a scaffold for skin tissue engineering.