

บทที่ 1

บทนำ

ในการเรียนการสอนรายวิชาชีววิทยา ระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 ที่มีเนื้อหาเกี่ยวกับเรื่องวัฏจักรของเซลล์ ในหน่วยเรื่องเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ส่วนหนึ่งในเนื้อหาประกอบไปด้วย การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis) ซึ่งหนังสือที่ใช้ประกอบสำหรับการเรียนของสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) กระทรวงศึกษาธิการนั้นมีภาพประกอบมาจากตัวอย่างจริงที่แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมในนิวเคลียสของการแบ่งเซลล์ของเซลล์พืชเท่านั้น แต่ไม่มีตัวอย่างจากภาพจริงของเซลล์สัตว์ ดังนั้นหากมีสื่อการเรียนการสอนที่สามารถแสดงให้เห็นนักเรียนเห็นระยะต่างๆที่เกิดขึ้นในการแบ่งเซลล์ของวัฏจักรเซลล์สัตว์ จะเป็นการกระตุ้นการเรียนรู้เพิ่มความน่าสนใจและเข้าใจในเนื้อหาวิชา ทำให้การเรียนการสอนมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น

การศึกษาเซลล์สัตว์แต่เดิมต้องทำในสัตว์ตัวทดลอง ซึ่งมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น เซลล์สัตว์ส่วนใหญ่มีการดำเนินวัฏจักรอย่างช้าๆ โดยรอบของวัฏจักรของเซลล์ๆหนึ่งอาจใช้เวลานานถึง 24 ชั่วโมง และเซลล์ส่วนใหญ่ในตัวของสัตว์ทดลองเป็นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะอย่างแล้วและออกจากวัฏจักรของเซลล์มาอยู่ในสถานะเงียบ (quiescent) หรือ G0 ซึ่งจะไม่สามารถติดตามศึกษาอย่างต่อเนื่องจึงทำได้ยาก แต่ในปัจจุบันด้วยเทคโนโลยีของการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์ ทำให้สามารถเลี้ยงเซลล์อยู่ในจานหรือขวดเลี้ยงได้เป็นระยะเวลานาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์มะเร็ง ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีการแบ่งตัวอยู่ตลอดเวลาและมีระยะต่างๆในการแบ่งเซลล์และวัฏจักรเหมือนกับเซลล์ปกติที่แบ่งตัว นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง ทำให้การศึกษาทำได้รวดเร็วและถูกต้องไม่ขัดกับจริยธรรมการใช้สัตว์ทดลอง

การศึกษาวัฏจักรของเซลล์ที่ให้ผลเป็นที่ยอมรับในระดับสากลโดยทั่วไป คือการศึกษาโดยใช้เทคนิคฟลูออไรโดเมทรี (flow cytometry) โดยใช้เครื่องฟลูออไซโตมิเตอร์ (flow cytometer) โดยหลักการของเครื่องนี้ในการศึกษาวัฏจักรของเซลล์คือ การใช้สีย้อมเรืองแสง หรือ fluorescent dye ที่สามารถย้อมติดเฉพาะ DNA ภายในนิวเคลียส โดยที่เซลล์ที่อยู่ในระยะต่างกันของวัฏจักรของเซลล์จะมีขนาดของนิวเคลียสต่างกันอันเป็นผลเนื่องมาจากการมีปริมาณ DNA ต่างกันนั่นเอง ดังนั้นเมื่อย้อมสีแล้ว นำเซลล์ไปผ่านเครื่องฟลูออไซโตมิเตอร์เครื่องจะสามารถวัดปริมาณของความแตกต่างนี้ได้โดยใช้เวลาในช่วงของเสี้ยววินาที ดังนั้นจึงสามารถนับเซลล์และจำแนกระยะของวัฏ

จักรเซลล์จำนวนมากได้ภายในเวลาไม่ถึงหนึ่งนาทีก่อนที่เซลล์จะตาย ความรวดเร็วและแม่นยำ เช่นนี้มีประโยชน์มากในการใช้งานวิจัยในระดับสูง เช่น การวิจัยฤทธิ์ของยาที่จะนำมาใช้กับคน หรือการวิจัยเซลล์ต้นกำเนิดเพื่อนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วย เป็นต้น แต่ความแม่นยำ รวดเร็วนี้ อาจจะเกินความจำเป็นสำหรับงานวิจัยเบื้องต้น ที่อาจเป็นเพียงการประเมินสารออกฤทธิ์ เพื่อการคัดกรอง (screening) หรือการศึกษาวัฏจักรของเซลล์ในระดับเบื้องต้น เมื่อเทียบกับค่าใช้จ่ายของเครื่องโพลีไซโตมิเตอร์ ราคาที่สูงของสีย้อมเรืองแสงที่ใช้ ต้องใช้เซลล์จำนวนมาก ขั้นตอนการทำและการเตรียมเซลล์ที่ต้องใช้เวลาและความชำนาญสูง ตลอดจนความเชี่ยวชาญในการควบคุมการใช้งานเครื่อง อย่างไรก็ตามมีเอกสารทางวิชาการน้อยมากที่ได้กล่าวถึงและแสดงให้เห็นจริง ว่าเซลล์คนและสัตว์ที่มีการแบ่งตัวอยู่ในวัฏจักรของเซลล์ในระยะต่าง ๆ นั้น มีความแตกต่างกัน ในเรื่องของขนาดของนิวเคลียสและขนาดของเซลล์ที่สามารถสังเกตเห็นและวัดขนาดได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ในห้องปฏิบัติการพื้นฐานทั่วไปที่หาได้ในโรงเรียนมัธยม หากมีการข้อมสัราคาไม่แพงที่ทำให้เห็นนิวเคลียสและขอบเขตของเยื่อหุ้มเซลล์ชัดเจน ก็อาจจำแนกเซลล์ในระยะต่างๆของวัฏจักรเซลล์ได้ และหากทำการนับจำนวนเซลล์ที่จำแนกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ในจำนวนหลัก 100 หรือ 500 หรือ แม้แต่ 1,000 เซลล์ ก็อาจประเมินเบื้องต้นว่าวัฏจักรของเซลล์ที่ทำการศึกษานั้นมีความเป็นปกติหรือไม่ หรือมีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างไร ถึงแม้ว่าอาจมีความผิดพลาดเกิดขึ้นได้มากในการนับจำนวน การจำแนกจะจัดเซลล์ให้อยู่ในชั้นใดของวัฏจักรเซลล์โดยผู้ทำการทดลอง ทั้งนี้เซลล์ที่กำลังดำเนินอยู่ในวัฏจักรนั้นย่อมมีขนาดใกล้เคียงกันมาก แต่ความผิดพลาดเหล่านี้ หากพิสูจน์ได้ในทางสถิติว่าสามารถยอมรับได้ โดยไม่ทำให้ผลแตกต่างจากการนับโดยเครื่องโพลีไซโตมิเตอร์มากนัก ก็จะทำให้เป็นการพัฒนางานวิจัยในเชิงของการประหยัดงบประมาณได้ ในอีกประเด็นหนึ่งของการใช้เซลล์มะเร็ง หรือเซลล์เพาะเลี้ยงในการศึกษา คือ ชนิดของเซลล์เชื้อสาย (cell lines) ที่แตกต่างกัน การเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน อาจทำให้เซลล์มีขนาดต่างกันไปได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาอีกส่วนหนึ่งในแง่ของความแตกต่างของวัฏจักรเซลล์ และขนาดของเซลล์เชื้อสายที่ต่างกัน

วัตถุประสงค์

- เพื่อเปรียบเทียบฐานวิทยาของเซลล์มะเร็งของคนในสภาพเลี้ยงซึ่งอยู่ในระยะต่างๆของวัฏจักรเซลล์โดยศึกษาจากเซลล์มะเร็ง 3 เชื้อสาย
- เพื่อเปรียบเทียบข้อมูลของการนับเซลล์ที่อยู่ในวัฏจักรเซลล์ โดยใช้ขนาดของนิวเคลียสในการจำแนกเพื่อนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลจำนวนจากโพลีไซโตมิเตอร์
- เพื่อนำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยไปสร้างเป็นเอกสารประกอบการเรียนการสอนเสริมเรื่องวัฏจักรของเซลล์ ในระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย

ขอบเขต

- ใช้เทคนิคการตรวจสอบวัฏจักรเซลล์ คือ การตรวจสอบทางสัณฐานวิทยา(morphology) โดยดูขนาดของนิวเคลียส
- ใช้เซลล์มะเร็งของคน 3 ชนิด ที่มีรูปร่างลักษณะเซลล์แบบเดี่ยว(morphological homogeneity) คือ HeLa มะเร็งปากมดลูก , A549 มะเร็งปอด , NCI-1299 มะเร็งปอด
- ใช้ยาเคมีมาตรฐานที่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง 1 ชนิด ได้แก่ cisplatin เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐาน ในการแทรกแซงและควบคุมวัฏจักรของเซลล์