

การศึกษาระยะเวลาที่มีผลต่อสภาพความคงตัวของสารเรืองแสงที่ใช้ในการย้อมเซลล์ที่ถูกตรึงสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Flow cytometry

(The study of stability of fluoro-chrome in fixative cells for flow cytometric analysis)



ปัญญามหิดล
คุณภาพคน คุณภาพงาน

Mahidol Quality Fair 2014

18-12-2557 ณ ศูนย์การเรียนรู้มหิดล ศาลายา

สิรภพ วงษ์นิยม หน่วยเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

วัตถุประสงค์

- 1 เพื่อศึกษาระยะเวลาที่มีผลต่อการคงตัวของสารเรืองแสงที่ใช้ในการย้อมเซลล์ภายหลังการตรึงด้วยสารละลาย fixative แล้วยังให้ผลการทดลองคงที่และน่าเชื่อถือ
- 2 เพื่อใช้ในการจัดการเวลาขอรับบริการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิค Flow Cytometry ได้อย่างเหมาะสม
- 3 เพื่อใช้ในการให้คำปรึกษา และความเชื่อมั่นต่อการขอรับบริการตรวจวิเคราะห์ Flow Cytometry
- 4 เพื่อเป็นการพัฒนางานประจำให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

หลักการและเหตุผล

การบริการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Flow cytometer เป็นหนึ่งในงานบริการตรวจวิเคราะห์ (Analytical Service) ของหน่วยเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งเป็นหน่วยงานกลางสำหรับให้บริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์ขั้นสูงเพื่อการสนับสนุนและพัฒนางานวิจัย

การศึกษา Flow cytometry เป็นการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ หรืออนุภาคขนาดเล็กที่เป็นเซลล์เดี่ยว (single cell) ซึ่งแขวนลอยอยู่ในสารละลาย (sheath fluidic) ด้วยการวัดปริมาณเซลล์และสารเรืองแสงที่เปล่งออกมาบนผิวเซลล์หรือภายในเซลล์ขณะที่ไหลผ่านกรวย (Nozzle)

การตรึงสภาพเซลล์ (Fixation) เป็นการหยุดขบวนการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ (metabolism) และรักษาสภาพของเซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตให้คงอยู่ในสภาพคล้ายเดิมมากที่สุดโดยไม่ให้ antigen determinant หรือ epitope ที่ต้องการวิเคราะห์ถูกทำลายไป

จากการให้บริการตรวจวิเคราะห์ปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งคือเวลาในการให้บริการที่มีเวลาตามระบบราชการ รวมถึงจำนวนผู้ขอรับบริการในแต่ละวัน ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นส่วนสำคัญที่ผู้ขอรับและผู้ให้บริการตรวจวิเคราะห์สามารถจัดการเวลาการรับตัวอย่างวิเคราะห์ได้อย่างเหมาะสมและไม่ส่งผลกระทบต่อตัวอย่างที่ส่งมาวิเคราะห์ นอกจากนี้ยังสามารถนำความรู้ที่ได้จากการศึกษามาใช้อธิบายและให้คำปรึกษากับผู้ขอรับบริการในการวางแผนงานวิจัยต่อไปได้

กรอบแนวคิด



ขอบเขตการศึกษา

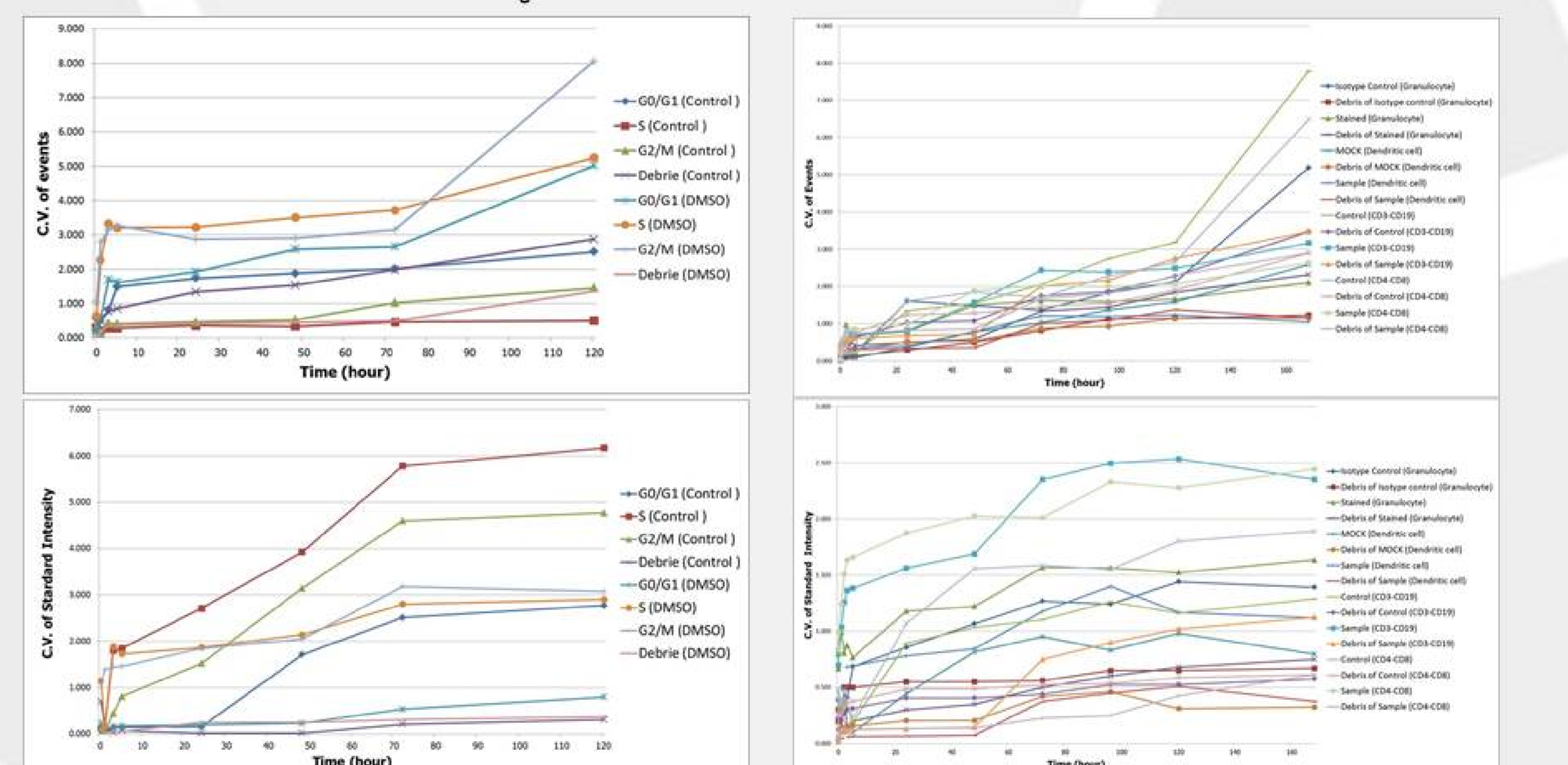
หน่วยเครื่องมือกลาง เป็นหน่วยงานที่ให้บริการและวิเคราะห์ตัวอย่างซึ่งไม่มีอุปกรณ์และสารเคมีในการทำปฏิบัติการ ทางผู้ศึกษาจึงต้องอาศัยตัวอย่างและการเก็บรวบรวมข้อมูลจากผู้ขอรับบริการทำการศึกษาในหัวข้อดังกล่าว

ระเบียบวิธีวิจัย

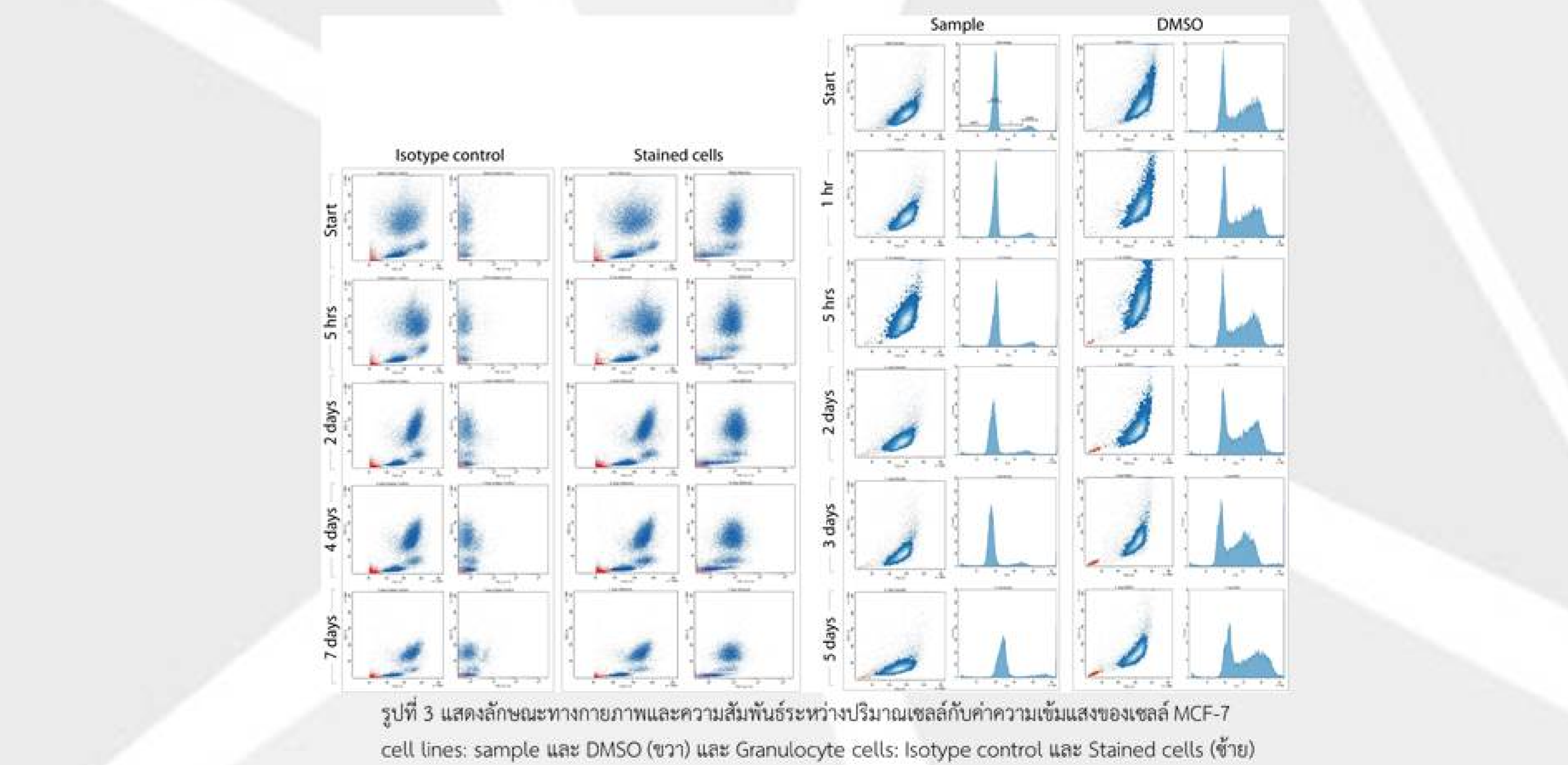


ข้อค้นพบจากการศึกษา

ผลการศึกษากลุ่มเซลล์ 2 ชนิด คือ เซลล์เนื้อเยื่อสัตว์ (เซลล์ MCF-7, เซลล์ HuCCA-1 และเซลล์ HT1080) และเซลล์เม็ดเลือด (Granulocytes, Monocytes และ lymphocyte (CD4:CD8 และ CD3:CD19)) โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรผันจากปริมาณเซลล์ที่วิเคราะห์ และค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรผันข้อมูลเทียบกับค่าความเข้มแสงมาตรฐานเริ่มต้น ผลการทดลองมีแนวโน้มที่คล้ายกันดังรูปที่ 1 (เซลล์เนื้อเยื่อสัตว์) และรูปที่ 2 (เซลล์เม็ดเลือด) รวมถึงลักษณะทางกายภาพและความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเซลล์กับค่าความเข้มแสงของเซลล์ ที่เปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 แสดงลักษณะทางกายภาพและความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเซลล์กับค่าความเข้มแสงของเซลล์ MCF-7 cell lines: sample และ DMSO (ขาว) และ Granulocyte cells: Isotype control และ Stained cells (ขาว)



ข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเข้ารับบริการวิเคราะห์ในกลุ่มเซลล์เนื้อเยื่อ และกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดควรไม่เกิน 2-3 วัน และ 4-5 วัน ตามลำดับ ซึ่งหลังระยะเวลาดังกล่าวจะส่งผลกระทบต่อข้อมูล และสภาพทางกายภาพของเซลล์ที่ไม่เหมาะสมต่อการนำผลวิเคราะห์ไปรายงาน จากการศึกษาสามารถนำมาใช้กับเซลล์เนื้อเยื่อและเซลล์เม็ดเลือดชนิดอื่นๆได้ เพื่อประโยชน์ต่องานวิจัยและการรับบริการวิเคราะห์