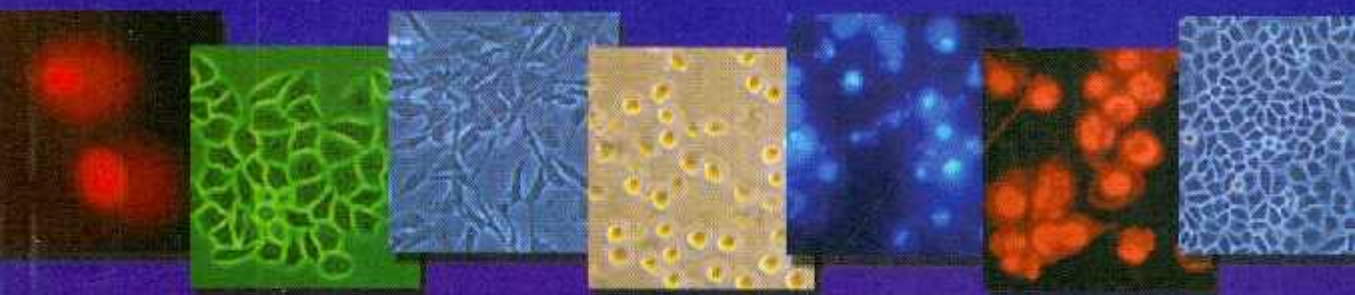




คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล



การประยุกต์ใช้เซลล์เพาะเลี้ยง ทางเภสัชศาสตร์ชีวภาพ



บรรณาธิการ ปริ้มฉะนียน มุ่งการดี

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 การเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์	1
<i>ปรีมเจเนียน มุ่งการดี</i>	
การแบ่งชนิดของเซลล์สัตว์	
เซลล์ชนิดปฐมภูมิ	
เซลล์ที่เลี้ยงได้ถาวร	
เซลล์ที่เลี้ยงได้แบบกึ่งถาวร	
การแบ่งกลุ่มเซลล์เพาะเลี้ยงจากคุณสมบัติการเจริญของเซลล์	
เซลล์ที่ยึดเกาะติดอยู่กับภาชนะ	
เซลล์ชนิดแขวนลอย	
บทที่ 2 การเตรียมอาหารอุปกรณ์และการเลี้ยงเซลล์	13
<i>ปรีมเจเนียน มุ่งการดี</i>	
ข้อมูลทั่วไปของอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์	
การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์	
การเตรียมซีรัม	
การเตรียมแบ่งเอนไซม์ทริปซิน	
การเลี้ยงเซลล์จากเซลล์แช่แข็ง	
การดูแลการเจริญของเซลล์	
การเก็บเซลล์แช่แข็ง	
อุปกรณ์ที่ใช้เลี้ยงเซลล์	

	หน้า
บทที่ 3 การศึกษาวงชีพของเซลล์ และการนำเซลล์มาใช้ทดลอง <i>ปรีมเจเนียน มุ่งการดี</i> วงชีพของเซลล์ การแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง การเลี้ยงเซลล์และเปลี่ยนภาชนะที่เลี้ยง การเลี้ยงเซลล์แขวนลอย การเลี้ยงเซลล์ที่ยึดเกาะติดกับภาชนะ วิธีการ Trypsinization วิธีการเตรียมเซลล์สำหรับการนับด้วย Haemocytometer counting chamber วิธีการตรวจนับเซลล์และการคำนวณหาจำนวนของเซลล์ วิธีการนำเซลล์ลงภาชนะที่จะใช้ทดสอบ	33
บทที่ 4 การประยุกต์ใช้เซลล์เพาะเลี้ยงทางไวรัสวิทยา <i>ภฤษณ์ ทิรพันธุ์เมธี</i> การเพิ่มจำนวนไวรัส การเพาะเลี้ยง Dengue virus ใน Vero cell การตรวจการเจริญของไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยง Multiplicity of Infection (MOI) การหาปริมาณไวรัสโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง Plaque assay Focus formation assay	47

บทที่ 5	โมโนโคลนอล แอนติบอดี	
	: แอนติบอดีที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง	61
	<i>ปริิมนิพนธ์ มุ่งการดี</i>	
	ความรู้พื้นฐานของแอนติบอดี	
	การตอบสนองของภูมิคุ้มกันด้านสารน้ำ	
	โพลีโคลนอลแอนติบอดี	
	โมโนโคลนอล แอนติบอดี	
	ขั้นตอนการผลิตโมโนโคลนอล แอนติบอดี	
	การคัดเลือก Hybridomas	
	การเพิ่มจำนวนการผลิต โมโนโคลนอล แอนติบอดี	
	Genetically engineered monoclonal antibody	
	Chimeric monoclonal antibody	
	Humanized antibody	
	Human monoclonal antibody	
	ระบบการตั้งชื่อของโมโนโคลนอล แอนติบอดี	
	เทคโนโลยีการแสดงแอนติบอดีบนผิวฟาจ	
	โมโนโคลนอล แอนติบอดี มีข้อดีที่สำคัญแตกต่างจากโพลีโคลนอล	
	การประยุกต์ใช้แอนติบอดีในการป้องกันและรักษา	
	และการตรวจวินิจฉัย	

บทที่ 6 การใช้เซลล์สำหรับทดสอบสารต้านมะเร็งเบื้องต้น 87

นัฐวุฒิ กอเข็ม

ปรีมเจนิยน มุ่งการดี

การเลี้ยงเซลล์สำหรับทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็ง

Monolayer cell culture

Multicellular tumor spheroids

การทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งในหลอดทดลอง

SBR assay

MTT assay

DCFH-DA fluorescence probe

LDH assay

Calcein-AM assay

DNA staining โดยใช้ Hoechst 33342

DNA ladder assay

บทที่ 7 การตรวจสอบฤทธิ์ของสารที่มีต่อเซลล์

โดยใช้ Flow cytometer

109

ปรีมเจนิยน มุ่งการดี

Annexin V-FITC assay

การวิเคราะห์วงจรชีพเซลล์ (Cell cycle analysis)

การเตรียมแยก Human Peripheral Blood Mononuclear Cells

การนำ PBMC ที่แยกมาทดสอบฤทธิ์ของสารตัวอย่าง

การตรวจ Reactive Oxygen Species (ROS)

บทที่ 8	การสกัด และการตรวจหาสารพันธุกรรมจากเซลล์	131
	<i>เอกรัฐ รอดภัย</i>	
	สารพันธุกรรม (Genetic materials)	
	ชนิดของสารพันธุกรรม	
	การสกัดสารพันธุกรรม	
	การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic solvent)	
	ชุดสกัดโดยวิธี Solid-phase nucleic acid extraction	
	ชุดสกัดโดยการใช้ซิลิกาเมตริกคอลลิมน์	
	ชุดสกัดโดยการใช้อนุภาคที่มีประจุแม่เหล็ก	
	การคำนวณหาปริมาณของสารพันธุกรรม	
	เทคนิคพีซีอาร์	
	การทำอิมมูโนโพรบ์โดยใช้อะกาโรส	
	เทคนิครีเวอร์ส ทรานสคริปชัน พีซีอาร์	
	เทคนิคเรียลไทม์ พีซีอาร์	
บทที่ 9	การนำส่งสารพันธุกรรมเข้าสู่เซลล์สัตว์	161
	<i>คณิศา เสวียมสุนทร</i>	
	เทคนิคและวิธีทรานส์เฟคชัน	
	วิธีทางชีววิทยา	
	หลักการนำส่งยีนเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านด้วยไวรัสพาหะ	
	ข้อจำกัดในการนำส่งยีนด้วยไวรัสพาหะ	
	วิธีทางเคมี	
	เด็กทรานส์	
	แคลเซียมฟอสเฟต	
	ลิโปเฟคชัน	

วิธีทางฟิสิกส์ .

วิธีไมโครอินเจกชัน

วิธีอนุภาคนำส่งไปโอดีสตัก

วิธีอิเล็กโทรพอเรชัน

การทวานส์เฟลซันอาร์เอ็นเอ

วิธีการนำส่งสารพันธุกรรมเข้าสู่เซลล์สัตว์

บทที่ 10 พื้นฐานการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิด

199

คณิสส์ เสวียมสุนทร

เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน

แหล่งที่มาของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน

วิธีการแยกเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน

วิธีการเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน

เซลล์ต้นกำเนิดไอพีเอส

วิธีรีโปรแกรมเซลล์ด้วยไวรัสพาหะชนิด Cre-Lox mediated
transgene excision

วิธีรีโปรแกรมเซลล์ด้วยการใช้ไวรัสชนิดที่ไม่แทรก
สารพันธุกรรมเข้าจีโนมหรือการใช้โปรตีน

วิธีรีโปรแกรมเซลล์ด้วยการไม่ใช้ไวรัส

วิธีรีโปรแกรมด้วยพิกกิแบค

วิธีรีโปรแกรมด้วยมินิเชอร์เคิลเวกเตอร์

วิธีรีโปรแกรมด้วยอิพีโซมพลาสמיד

วิธีการเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของมนุษย์และเซลล์ไอพีเอส
ขั้นตอนการเตรียมเซลล์พีเลี้ยงไฟโบรบลาสต์หนู

บทที่ 11	การทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งในสัตว์ทดลอง	247
	<i>นัฐวุฒิ กอเซ็ม</i>	
	โมเดลสัตว์ทดลองสำหรับพัฒนา และค้นหาสารต้านมะเร็ง	
	Hollow fiber cell culture	
	การฉีดเซลล์มะเร็งได้ชั้นผิวหนัง	
	การเพาะเลี้ยงและการเตรียมเซลล์มะเร็ง	
	หนูที่ใช้ฉีดเซลล์มะเร็งมนุษย์	
	การฉีดเซลล์มะเร็งมนุษย์	
	การเจริญของก้อนมะเร็ง	
	การฉีดสารทดสอบ	
	การวัดระดับการตอบสนองทางเภสัชวิทยา	
	การฉีดเซลล์มะเร็งเข้าไปในอวัยวะเป้าหมายโดยตรง	
	การสร้างให้หนูเป็นมะเร็งด้วยวิธีการทางพันธุวิศวกรรม	
	การแปลงค่าผลจากสัตว์ทดลองสำหรับใช้ทดลองกับมนุษย์	
	ภาคผนวก (Appendix)	259
	บรรณานุกรม	265
	Index	269