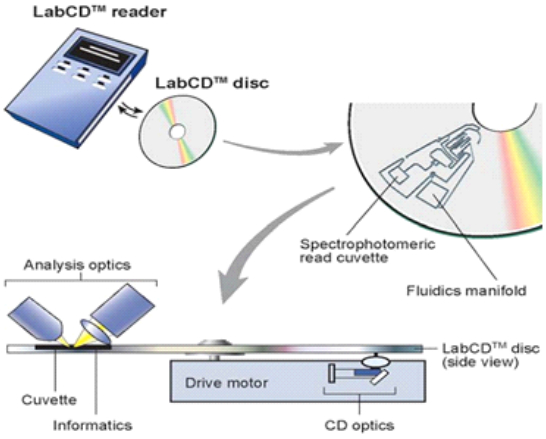
ห้องปฏิบัติการบนซีดี (Lab on a CD)

วัชระ สร้อยคำ
mbwsk@staff2.mahidol.ac.th
ศูนย์วิจัยและพัฒนาอุปกรณ์ชีวการแพทย์
สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล

THAI ASSOCIATION FOR MEDICAL INSTRUMENTATION

1. บทนำ

การวิจัยในห้องปฏิบัติการทางชีววิทยาต่อไปในอนาคตอาจไม่จำเป็นต้องมีห้องปฏิบัติการที่มีขนาดใหญ่ หรือเครื่องมือที่มีขนาดใหญ่ เพรียบพร้อมทันสมัย ต้องการเพียงเครื่องมือที่มีขนาดเล็กสามารถพกพาได้สะดวกหรือสามารถเคลื่อนย้ายไปทำงานนอกสถานที่ได้ และในปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีไปอย่างรวดเร็ว ซึ่งอาจคาดไม่ถึงว่าจะสามารถทำการวิจัยบนแผ่นซีดีได้ ปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจวัดทางห้องปฏิบัติการ โดยใช้แผ่นซีดี หรือ ที่เรียกว่าห้องปฏิบัติการบนซีดี (Lab on a CD) เป็นการพัฒนาเครื่องมือในห้องปฏิบัติการทางชีววิทยา โดยได้นำเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) และเครื่อง สเปคโตรมิเตอร์ (Spectrophotometer) ซึ่งเครื่องมือสองชนิดนี้ถือว่าเป็นเครื่องมือพื้นฐานที่ใช้ในการทำการวิจัย การพัฒนาเครื่อมือสองชนิดนี้ถูกพัฒนาให้มีขนาดเล็กลงจนสามารถพกพาได้ รูปแบบของเครื่องมีลักษณะเหมือนเครื่องอ่านซีดีชนิดพกพา โดยที่ใช้แผ่นซีดีเป็น ที่บรรจุสารที่ต้องการปั่นเหวี่ยงและใช้เป็นที่บรรจุสารที่ต้องการอ่านค่าความดูดกลืนแสง (Cuvette) และเมื่อเราใส่แผ่นซีดีลงไปในเครื่องตัวเครื่องจะมีมอเตอร์เป็นตัวทำหน้าที่ในการปั่นเหวี่ยงแผ่นซีดี และเมื่อทำการปั่นเหวี่ยงจนครบเวลาที่กำหนด ต่อมาจะทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยการส่องแสงผ่านแผ่นซีดีเพื่อทำการอ่านค่าการดูดกลืนแสงและแสดงค่าบนหน้าจอแสดงผล



รูปที่ 1. หลักการของเครื่อง LabCD™ และ CD

2.ซีดี Micro-Centrifuge Fluidics on Compact Disc

2.1 หลักการทำงาน

การขับดันของเหลวในซีดีนั้นถูกทำให้สำเร็จด้วยความดันที่ลดลงจากแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Centrifuge) และอาศัยอัตราการหมุน (Rotation rate), ลักษณะทางเรขาคณิต (Geometry) และตำแหน่ง (Location) ของช่องทางการไหลของของเหลว และช่องใส่ของเหลวและคุณสมบัติของของเหลว (Fluid properties)

ทีมวิจัยของ Madou และ Duffy ได้แสดงอัตราการไหลของของเหลวในโครงสร้างของซีดีเปรียบเทียบกับทฤษฎีการเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง ได้ความเร็วเฉลี่ยของของเหลวและอัตราการไหลของปริมาตรสารดังนี้

$$U = D_b{}^2 \rho \omega^2 \bar{r} \Delta r / 32 \mu L \qquad (1)$$

$$Q = UA \qquad (2)$$

โดยที่ U = Average velocity of the liquid

D_b = Hydraulic diameter of channel

ρ = Density of the liquid

ω = Angular velocity of the CD

$\bar{r}$ = Average distance of the liquid in the channel to the center

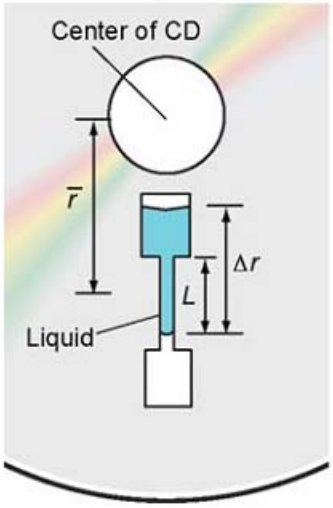
Δr = Radial extent of the fluid

μ = Viscosity of the solution

L = Length of the liquid in the capil lary channel

Q = Volumetric flow rate

A = Cross-section area



รูปที่ 2. CD microfluidics

2.2 รูปแบบการทำงานบนซีดี

(1) การผสมของเหลว

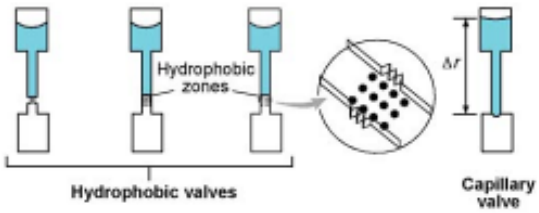
ในการออกแบบในการผสมของเหลวในซีดีต้องอาศัยความเร็วในการไหลของของเหลว ซึ่งการไหลของของเหลวผ่านช่องแคบในซีดีสามารถคำนวณค่า Reynolds number (R_e) การไหลแบบ laminar ค่า R_e จะมีค่าน้อยกว่า 100 และค่า R_e จากการไหลแบบ laminar ไปเป็นการไหลแบบ turbulent จะมีค่าประมาณ 2300 ซึ่งการไหลแบบ laminar มีความสำคัญในการผสมของเหลวบนซีดี ในการออกแบบการผสมของเหลวนั้นต้องคำนึงถึงความยาวของช่องทางการไหลของของเหลวก่อนไปถึงช่องผสมของเหลวและช่องพักของของเหลวก่อนผสมเพื่อหาค่าความเร็วในการผสม ซึ่งความเข้มข้นของสารที่ได้จากการผสมจะคำนวนจากอัตราการแพร่ของของเหลวและเวลาในการไหลของของเหลวผ่านช่องผสมของเหลว

(2) การปิด-เปิดการไหลผ่านของของเหลว

เป็นการปิด-เปิดการไหลผ่านของของเหลวผ่านช่องบนซีดี โดยอาศัยคุณสมบัติแรงตึงผิวของของเหลวและความเร็วในการปั่นเหวี่ยงของเหลวจนแรงที่เกิดจากการปั่นเหวี่ยงจะทำให้ของเหลวผ่านไปได้ สามารถแบ่งการปิด-เปิดการไหลผ่านของของเหลวเป็น 2 ชนิด

1) Hydrophobic valve

2) Capillary valve



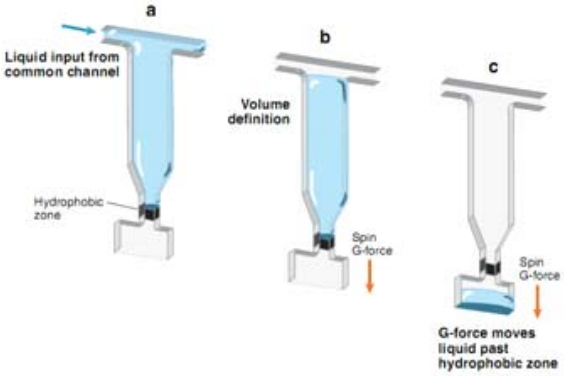
รูปที่ 3. Hydrophobic valve และ Capillary valve

(3) การกำหนดปริมาตร

การควบคุมปริมาตรของของเหลวได้อย่างละเอียด และถูกต้องเป็นสิ่งหนึ่งที่มีความสำคัญมากและมีความจำเป็นในหลาย ๆ กระบวนการของการวิเคราะห์สิ่งส่งตรวจ บริษัท Gyrolab เป็นอีกหนึ่งบริษัทที่ได้พัฒนาซีดีรุ่น MALDI SP1

THAI ASSOCIATION FOR MEDICAL INSTRUMENTATION

ที่สามารถควบคุมปริมาตรของสารที่ผ่านช่องได้โดยใช้คุณสมบัติของแรงตึงผิวและ Hydrophobic valve โดยที่เมื่อยังไม่ได้ทำการปั่นเหวี่ยง ของเหลวจะไม่สามารถไหลผ่าน Hydrophobic valve ได้และเมื่อทำการปั่นเหวี่ยงจนความเร็วเชิงมุมเพิ่มถึงค่าที่กำหนดจะทำให้ของเหลวสามารถผ่าน Hydrophobic valve ได้ทำให้สามารถกำหนดปริมาตรของสารได้อย่างถูกต้อง



รูปที่ 4. การกำหนดปริมาตรของของเหลว

(4) Packed columns

Packed columns เป็นคอลัมน์ที่ออกแบบมาใช้ในงานทางด้านโครมาโตกราฟีเพื่อใช้ในการแยกสาร

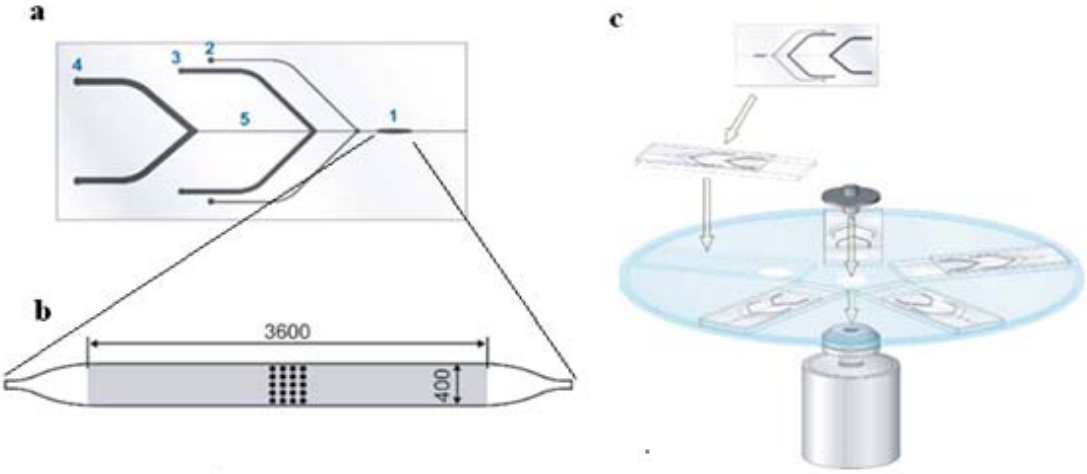
ในงานห้องปฏิบัติการบนซีดี (Lab on a CD) ก็ได้มีการพัฒนาความสามารถนี้เข้าไปในซีดีด้วย ตัวอย่างเช่น Quick Spin™ ของบริษัท Diagnostics Corp และอีกตัวอย่างเป็นโครมาโตกราฟีแบบแยกตามความจำเพาะ (Affinity chromatography) ที่ได้รับการพัฒนาโดยบริษัท Gyrolab โดยใส่สาร SOURCE™15 RPC ลงไปในช่องการไหลของของเหลวบนซีดีเพื่อเป็น reverse phase และของเหลวตัวอย่างที่ต้องการแยกจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ด้วยการอาศัยความเร็วในการปั่นเหวี่ยงในขณะที่ปั่นเหวี่ยงโปรตีนจะถูกดูดซับด้วยสารนี้ ต่อจากนั้นสารละลายที่ใช้ล้างก็จะผ่านคอลัมน์นี้ และสุดท้าย Elution buffer ก็จะไหลผ่านเพื่อแยกโปรตีนและนำไปเก็บไว้เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

3. การประยุกต์ใช้งานห้องปฏิบัติการบนซีดี

3.1 การทำ Microarray Hybridization สำหรับวินิจฉัยระดับโมเลกุลของโรคติดเชื้อ

Microarray เป็นเทคโนโลยีใหม่ที่อาศัยการจับ DNA, mRNA หรือโปรตีนไว้ในแผ่นค้ำจุน ซึ่งอาจเป็นแก้ว แล้วนำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ที่ติดฉลากไว้กับสารเรืองแสงมาทำ Hybridization กับ DNA, mRNA หรือโปรตีนซึ่งวิธีนี้สามารถหาความเข้ม ของการแสดงออกของยีนในแต่ละสภาวะของยีนได้ และเมื่อไม่กี่ปีที่ผ่านมาทีมวิจัยของ Modou มหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนียและทีมวิจัยของ Bergeron มหาวิทยาลัยลาวาลได้ตีพิมพ์การใช้ห้องปฏิบัติการบนซีดีสำหรับการวิเคราะห์ DNA ด้วยวิธี Microarray ของโรคติดเชื้อและนำเสนอสารละลายที่มีความฉลาดเพื่อเพิ่มความเป็นอัตโนมัติและความเร็วในการทำ Microarray hybridization โดยใช้โอลิโกนิวคลีโอไทด์ที่เฉพาะของ *Staphylococcus* เป็นโพรบ (Probe) สำหรับจับและติดเป็นจุดขนาด 125 ตm จำนวน 4 x 5 แถวบนสไลด์แก้วขนาดมาตรฐาน 3 x 1 นิ้ว การไหลของเซลล์, บัพเพอร์และสารต่างๆ ถูกออกแบบเพื่อให้เกิดกระบวนการ Hybridization บนซีดีเพื่อตรวจหาการติดเชื้อแบคทีเรีย (*Staphylococcus spp.*) ซึ่งง่ายต่อการใช้งาน, มีความเป็นอัตโนมัติและรวดเร็วในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อ

THAI ASSOCIATION FOR MEDICAL INSTRUMENTATION



รูปที่ 5. ห้องปฏิบัติการบนซีดีสำหรับการวิเคราะห์ DNA ด้วยวิธี Microarray hybridization
a) สไลด์แก้วขนาดมาตรฐาน 3 x 1 นิ้ว ที่ถูกออกแบบมาเพื่อให้เกิดกระบวนการ Hybridization
b) โพรบขนาด 125 ตm จำนวน 4 x 5
c) กระบวนการ Microarray hybridization บนซีดี

3.2 การทำให้เซลล์แตก (Cell lysis) บนซีดี

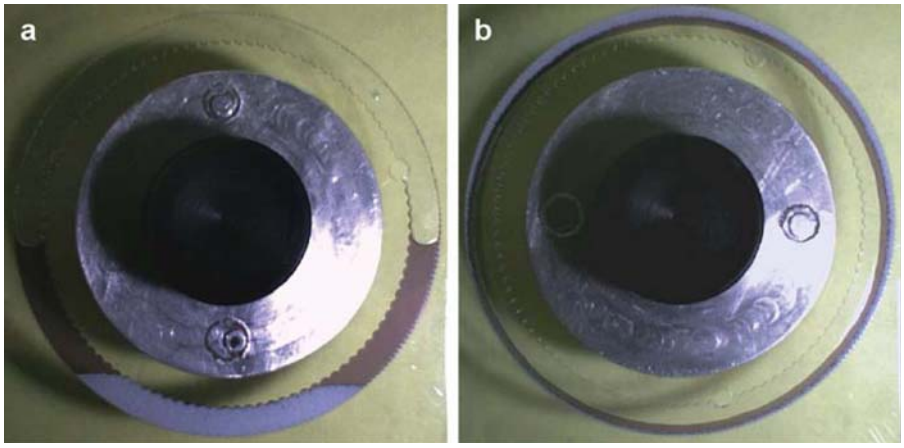
วิธีการหลายอย่างในการทำให้เซลล์แตก (Cell lysis) ที่ใช้ในปัจจุบันมีพื้นฐานบนวิธีการทางเชิงกล, ฟิสิกส์เคมี, เคมีและหลักการทางเอ็นไซม์ โดยทั่วไปในห้องปฏิบัติการวิจัยทางชีววิทยาอาศัยหลักการทางเคมีและเอ็นไซม์ แต่ข้อเสียที่สำคัญของกระบวนการนี้เกิดจากการใช้แรงงานที่สิ้นเปลือง, การปนเปื้อนในกระบวนการการทำให้เซลล์แตกและความต้องการเพิ่มเติมในขั้นตอนการทำให้สารนั้นมีความบริสุทธิ์มากขึ้น ขั้นตอนที่ต้องการน้อยที่สุดสำหรับการทำให้เซลล์แตกนั้นต้องเป็นวิธีการที่รวดเร็วและใช้สารเคมีน้อยซึ่งจะทำให้เกิดประโยชน์เป็นอย่างมาก

ในปัจจุบันการทำให้เซลล์แตกถูกนำเสนอโดย Kim และคณะด้วยห้องปฏิบัติการบนซีดีเป็นวิธีการทำให้เซลล์แตกด้วยกระบวนการเชิงกล โดยใช้อนุภาคทรงกลม (beads) ใส่ในช่องเก็บสารรูปวงแหวน บนซีดีเพื่อให้ทำปฏิกิริยากับเซลล์และทำการหมุนซีดีรอบแกนด้วยอัตราความเร่งสูงเป็นเวลา 5-7 นาทีเซลล์ก็จะถูกทำให้แตก การทำให้เซลล์แตกนี้จะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น ความหนาแน่นของอนุภาคทรงกลม, อัตราความเร็วของวัตถุที่เคลื่อนที่เป็นวง, อัตราเร่งและปริมาณเศษชิ้นส่วนของแข็ง

3.3 การเพาะเลี้ยงหนอนพยาธิ *C.elegans* แบบอัตโนมัติบน CD

Kim และคณะได้พัฒนาห้องปฏิบัติการบนซีดีสำหรับการศึกษาการเพาะเลี้ยงแบบอัตโนมัติและการศึกษาการแสดงออกของยีน (gene expression) ของหนอนพยาธิ *Caenorbabditis elegans* ในการศึกษานี้เป้าหมาย สูงสุดเพื่อให้เข้าใจสภาวะแวดล้อมในอวกาศมีผลอย่างไรกับหนอนพยาธิ เช่น แรงโน้มถ่วงขนาดต่ำ(microgravity), แรงโน้มถ่วงขนาดสูง (hypergravity) และการแผ่รังสี(radiation) ซึ่งสภาวะแวดล้อมในอวกาศเป็นสาเหตุการเปลี่ยนแปลงที่หลากหลายในระบบสรีรวิทยาในสิ่งมีชีวิตจะเริ่มปรากฏขึ้นเมื่อมีแรงโน้มถ่วง 1 G ทำให้ห้องปฏิบัติการบนซีดีเป็นที่สนใจอย่างยิ่งโดยเฉพาะในการศึกษาทางด้านอวกาศเนื่องจากสามารถผลิตแรง 1 G โดยอาศัยแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง อย่างไรก็ตามในการประยุกต์ใช้งานในการศึกษา ทางด้านนี้ก็ยังมีข้อจำกัดบางประการ

THAI ASSOCIATION FOR MEDICAL INSTRUMENTATION



รูปที่ 6. การทำให้เซลล์แตก (Cell lysis) บนซีดี
a) แสดงรูปขณะพักของอนุภาคทรงกลมจะตกตะกอนอยู่ด้านล่างช่องเก็บสารรูปวงแหวน
b) แสดงรูปขณะหมุนของอนุภาคทรงกลม (สีสว่าง) และของเหลว (สีเข้มกว่า) บนซีดี

4. สรุป

การวิจัยในห้องปฏิบัติการบนซีดี (Lab on CD) มีข้อได้เปรียบหลายอย่างกว่าเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบเดิม ๆ ที่ใช้กันอยู่ในห้องปฏิบัติการทั่วไป เช่น ความรวดเร็วในการทำงานกับตัวอย่างหลาย ๆ ชนิด, ความสามารถในการควบคุมอัตราการไหลของเหลวและรูปแบบการวิเคราะห์ตัวอย่าง เช่น การวัดปริมาตร, การเจือจาง, การผสม, การปรับเทียบ, การแยกสาร และอื่น ๆ อีกมากมาย ทำให้ห้องปฏิบัติการบนซีดี (Lab on CD) มีความน่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง

ห้องปฏิบัติการบนซีดีนั้นถูกปรับใช้งานได้ง่ายกับวิธีการตรวจวัดทางแสง เนื่องจากสามารถผลิตแผ่นซีดีพลาสติกคุณภาพสูงทางแสงที่มีความสามารถในการดูดกลืนแสง, ความสามารถในการเรืองแสง และเทคนิคการใช้งานทางด้านกล้องจุลทรรศน์ยิ่งไปกว่านั้นการพัฒนาเทคโนโลยีในอุตสาหกรรมการผลิตแผ่นข้อมูลแบบบันทึกด้วยแสงสามารถทำให้ซีดีมีความละเอียดของเนื้อวัสดุในระดับไมครอน (10^{-6} m), ดีวีดี และ เอชดี ดีวีดีมีความละเอียดต่ำกว่าระดับไมครอน (10^{-6}m) ได้ซึ่งการพัฒนาห้องปฏิบัติการบนซีดีต่อไปจะเป็นการประยุกต์การใช้งานในรูปแบบใหม่ ๆ เราเชื่อว่าในอนาคตจะเกิดการรวมตัวกันของแผ่นดีวีดีที่ใช้งานและข้อมูลในการทดสอบ สิ่งหนึ่งที่ทำให้เห็นภาพคือการประยุกต์ใช้งานในการดูรูปร่างของแบคทีเรียและสามารถบันทึกภาพที่ต้องการลงบนดีวีดีได้

5. เอกสารอ้างอิง

1. Marc Madou, Jim Zoval, Guangyao Jia, Horacio Kido, Jitae Kim, and Nahui Kim, Lab on a CD, Annu. Rev. Biomed. Eng. 2006;8:601–28.

2. Madou MJ, Kellogg GJ, The LabCDTM: a centrifuge-based microfluidic platform for diagnostics. In Systems and Technologies for Clinical Diagnostics andDrug Discovery, ed. GE Cohn, A Katzir, 1998;3259:80–93.

3. Kim J, Jang SH, Jia G, Zoval JV, Da Silva NA, Madou MJ, Cell lysis on a microfluidic CD (compact disc). Lab Chip, 2004;4:516–22.

4. Kim N, Dempsey CM, Zoval JV, Sze JY, Madou MJ. 2006. Automated microfluidic compact disc (CD) cultivation system of *C. elegans*, 2006.