บทที่ 7
การตายของเซลล์ในขณะกำลังเจริญเติบโต

7.1 คำจำกัดความของการตายและการพักตัวของเซลล์

โปรติสท์ที่ไม่สามารถเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมซึ่งปกติเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตจะต้องเป็นเซลล์ที่ตายแล้วหรือไม่ก็อยู่ในระยะพักตัว (dormant cell) ข้อแตกต่างที่สำคัญระหว่างทั้งสองอย่างนี้ก็คือ เซลล์พักตัวในบางสภาวะสามารถเริ่มต้นใหม่เป็นเซลล์ซึ่งมีการเจริญเติบโตตามปกติหรือเป็นเซลล์ร่างกายได้ ส่วนเซลล์ที่ตายไปแล้วไม่สามารถทำได้ ตัวอย่างของรูปแบบที่อยู่ในระยะพักตัวได้แก่สปอร์ของแบคทีเรียและฟังไจหรือซิสต์ (cyst) ของโปรโตซัว โดยทั่วไปการเกิดรูปแบบพักตัวเป็นแบบฉบับของขบวนการที่ใช้ระยะเวลาซึ่งยาวนานกว่าระยะเวลาทวีคูณต่ำสุดของรูปแบบที่เป็นร่างกาย การเปลี่ยนแปลงเซลล์อย่างนี้ค่อนข้างจะคล้ายคลึงกันกับการทำให้แตกต่างกันของเซลล์ในเนื้อเยื่อพืชและสัตว์ชั้นสูงถึงแม้ว่าจะไม่อาจจัดให้เป็นอย่างเดียวกันได้อย่างกว้างขวาง แบบจำลองสำหรับขบวนการทำให้แตกต่างไปเป็นสปอร์ของแบคทีเรียจะได้พิจารณากันในบทที่ 18.5

โปรติสท์อาจตายได้เนื่องจากปัจจัยทางกายภาพที่เป็นภัย เช่นอุณหภูมิสูงเกินไปหรือผลของสารเคมีที่เป็นพิษ การอดตายหรือการผิดพลาดเกี่ยวกับอัตโนมัติสังเคราะห์ (autosynthesis) ในเชื้อจุลินทรีย์ที่กำลังเจริญเติบโต เซลล์ที่ตายแล้วหรืออยู่ในระยะพักตัวจะมีพฤติการณ์คล้ายคลึงกันคือไม่ทำให้มีประชากรเพิ่มขึ้น

7.2 อัตราการตาย

7.2.1 การตายของเซลล์ในขณะหมักแบบเก็บกัก

สมมุติว่าอัตราการตายของเซลล์เป็นสัดส่วนโดยตรงต่อจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (y_v) ดังนั้น

$$dy_v/dt = -ky_v \qquad 7.1$$

k คืออัตราการตายเฉพาะซึ่งคงที่ ดังนั้นอัตราความเร็วในการเจริญเติบโตของประชากรที่มีชีวิตจึงถูกกำหนดได้โดยสมการคือ

$$dy_v/dt = (\mu - k)y_v \qquad 7.2$$

μ คืออัตราความเร็วในการเจริญเติบโตเฉพาะ เมื่ออินติเกรตสมการที่ 7.2 จะได้ว่า

$$\ln y_v = \ln y_{v(0)} + (\mu - k)t \qquad 7.3$$

$(\mu - k)$ คืออัตราความเร็วในการเจริญเติบโตเฉพาะที่ปรากฏและนานเท่านานถ้า $k < \mu$ ประชากรที่ยังมีชีวิตอยู่จะมีการเจริญเติบโตแบบขยาย ระยะเวลาในการทวีคูณที่ปรากฏถูกกำหนดได้เป็น $(\ln 2)/(\mu - k)$ แต่ระยะเวลาในการทวีคูณที่แท้จริงของเซลล์ที่มีชีวิต คือ $(\ln 2)/\mu$

อัตราการเพิ่มขึ้นของประชากรเซลล์ทั้งหมด (y_T) ถูกกำหนดได้เป็น

$$dy_T/dt = \mu y_v \qquad 7.4$$

แทนค่าสำหรับ y_v จากสมการที่ 7.3 จะได้ว่า

$$\int_{y_{T(0)}}^{y_T} dy_T = \mu y_{v(0)} \int_0^t e^{(\mu - k)t}\, dt \qquad 7.5$$

นั่นก็คือ

$$y_T = y_{T(0)} + \frac{\mu}{\mu - k} \cdot y_{v(0)} (e^{(\mu - k)t} - 1) \qquad 7.6$$

สำหรับการเพิ่มขึ้นของประชากรทั้งหมดอาจเป็นไปได้ในสามกรณีซึ่งขึ้นอยู่กับว่า $k < \mu$ หรือ $k = \mu$ หรือ $k > \mu$ เมื่อ $k < \mu$ และ t มีค่ามากจะได้ว่า $y_{T(0)} \approx 0$ เมื่อเทียบกับ y_T ที่เวลา t และ $(e^{(\mu - k)t} - 1) \approx e^{(\mu - k)t}$ ดังนั้น

$$y_T \approx \frac{\mu}{\mu - k} y_{v(0)}\, e^{(\mu - k)t} \qquad 7.7$$

นั่นก็คือ y_T เพิ่มขึ้นด้วยอัตราความเร็วแบบขยายตัวคงที่

ถ้า $k = \mu$ จะได้ว่า y_v คงที่และสมการที่ 7.6 สำหรับ y_T จึงไม่อาจใช้ได้อีกต่อไปแต่จะได้จากสมการที่ 7.4 เป็น

$$y_T = y_{T(0)} + \mu y_{v(0)} t \qquad 7.8$$

ถ้า $k>\mu$ จะได้ว่า $y_v \rightarrow 0$ และจากสมการที่ 7.6 จะได้ว่าประชากรทั้งหมดเข้าใกล้ขอบเขตจำกัดซึ่งถูกกำหนดโดย

$$\lim_{(t\rightarrow\infty)} y_T = y_{T(0)} + \frac{\mu}{k-\mu} \cdot y_{v(0)} \qquad 7.9$$

7.2.2 การตายของเซลล์ในขณะหมักแบบคงที่ทางเคมี

การหมักแบบคงที่ทางเคมีที่มีเซลล์บางส่วนตายไปในขณะทำการหมัก จากความสมดุลย์ของประชากรเซลล์ที่มีชีวิตในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ dt อาจกำหนดได้ว่า

$$dy_v = \mu y_v\,dt - k y_v\,dt - D y_v\,dt \qquad 7.10$$

k คืออัตราการตายเฉพาะและ D คืออัตราความเร็วในการเจือจาง ดังนั้นจะได้ว่า

$$dy_v/dt = \{(\mu-k)-D\}y_v \qquad 7.11$$

เมื่ออยู่ในสถานะมั่นคงคือเมื่อ $dy_v/dt=0$ จะได้ว่า

$$\mu = D+k \qquad 7.12$$

จากความสมดุลย์สำหรับประชากรเซลล์ทั้งหมด (y_T) ถ้า $y_v=\beta y_T$ ซึ่ง β คือสัดส่วนจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตจะได้ว่า

net growth = growth − output

นั่นก็คือ

$$dy_T = \mu\beta y_T\,dt - D y_T\,dt \qquad 7.13$$

ดังนั้น

$$dy_T/dt = (\mu\beta - D)y_T \qquad 7.14$$

และเมื่ออยู่ในสถานะมั่นคงเมื่อ $dy_T/dt=0$ จะได้ว่า

$$\mu = D/\beta \qquad 7.15$$

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสมการที่ 7.15 และ 7.12 จะพบว่า

$$k = D\left(\frac{1}{\beta}-1\right) \qquad 7.16$$

ถ้า μ มีค่าสูงสุดคือเท่ากับ μ_m จากสมการที่ 7.15 สัดส่วนจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (β) จะมีค่าต่ำสุดเมื่ออยู่ในสถานะมั่นคงจะได้ว่า

$$\beta_{\min} = D/\mu_m \qquad 7.17$$

7.3 การเกิดเซลล์ตายในขณะแบ่งตัว

7.3.1 ในการหมักแบบคงที่ทางเคมี

บางครั้งถึงแม้จะอยู่ภายใต้สภาวะซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตก็อาจพบว่ามีเซลล์ตายเกิดขึ้นในเชื้อจุลินทรีย์ กรณีเช่นนี้อาจหมายความว่ามีเซลล์บางเซลล์ได้ตายไปในขณะที่เกิดทั้งนี้อาจเนื่องจากมีการผิดพลาดในขบวนการอัตโนมัติสังเคราะห์ สมมุติให้ y_v เป็นเซลล์จำนวนหนึ่งซึ่งกำลังเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ได้เป็นเซลล์ใหม่จำนวน $2y_v$ โดยมี θ เป็นสัดส่วนจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตดังนั้นในทุกชั่วอายุใหม่ของเซลล์จะมีเซลล์ที่มีชีวิตอยู่จำนวน $2\theta y_v$ และมีเซลล์ที่ตายไปแล้วจำนวน $2(1-\theta)y_v$ เศษส่วน θ จึงถูกเรียกว่าดัชนีการมีชีวิต(viability index) หมายถึงโอกาสซึ่งเซลล์ใหม่ที่เกิดขึ้นจะมีชีวิตอยู่(Powell,1956) สมมุติถ้า 50 เซลล์มีการแบ่งตัวกลายเป็น 100 เซลล์ซึ่ง 99 เซลล์เป็นเซลล์ที่มีชีวิต ดังนั้นดัชนีการมีชีวิตซึ่งเป็นโอกาสที่เซลล์ใหม่จะมีชีวิตอยู่ได้ในที่นี้คือ 0.99 ถ้า $\theta<0{\cdot}5$ จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ (y_v) จะเข้าใกล้ศูนย์ ถ้า $\theta=0{\cdot}5$ จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่จะคงที่ และถ้า $\theta>0{\cdot}5$ จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่จะเพิ่มขึ้น

เพื่อให้ได้ความสมดุลย์ของประชากรเซลล์ที่มีชีวิตจึงกำหนดว่าในประชากรเซลล์ที่มีชีวิตในช่วงระยะเวลาอันสั้น dt มีเซลล์ซึ่งกำลังทำการแบ่งตัวอยู่เป็นจำนวน $\mu y_v\,dt$ จำนวนเซลล์ใหม่ซึ่งมีชีวิตที่เกิดขึ้นคือ $2\mu\theta y_v\,dt$ ซึ่ง θ คือดัชนีการมีชีวิตและ $\mu y_v\,dt$ ยังหมายถึงจำนวนเซลล์เก่าที่สูญหายไปโดยขบวนการแบ่งตัวได้อีกด้วย ความสมดุลย์ของประชากรเซลล์ที่มีชีวิตในการหมักแบบคงที่ทางเคมีจะถูกกำหนดได้โดย

$$\text{net increase} = \text{number produced} - \text{number lost through division} - \text{output}$$

ดังนั้น

$$dy_v = 2\mu y_v\theta\, dt - \mu y_v\, dt - Dy_v\, dt \qquad 7.18$$

ถ้าสัดส่วนของประชากรเซลล์ที่มีชีวิตทั้งหมดคือ β ก็อาจแทนค่า $y_v=\beta y_t$ และ $dy_v=\beta\, dy_t$ ลงในสมการที่ 7.18 จะได้ว่า

$$dy_t/dt = 2\mu\theta y_t - \mu y_t - Dy_t \qquad 7.19$$

นั่นก็คือ

$$dy_t/dt = \{(2\theta-1)\mu - D\}y_t \qquad 7.20$$

เมื่ออยู่ในสถานะมั่นคงคือเมื่อ $dy_t/dt=0$ จะได้ว่า

$$\mu = D/(2\theta-1) \qquad 7.21$$

เปรียบเทียบสมการที่ 7.21 และ 7.15 เมื่ออยู่ในสถานะมั่นคงจะได้ว่า

$$\beta = 2\theta - 1 \qquad 7.22$$

เช่นเดียวกันกับในกรณีของเซลล์ตายโดยการถูกฆ่าทำลายค่าต่ำสุดของ β ก็ถูกกำหนดได้โดยสมการที่ 7.17

7.3.2 <u>ในการหมักแบบเก็บกัก</u>

การเกิดเซลล์ตายขณะแบ่งเซลล์ในการหมักแบบเก็บกักอาจถูกเสนอเป็นแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ได้ดังต่อไปนี้ ถ้าให้ θ คือดัชนีการมีชีวิต จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตซึ่งปรากฏอยู่ในประชากรภายหลังจาก n ชั่วอายุ คือ

$$y_v = y_{v(0)}(2\theta)^n \qquad 7.23$$

ซึ่ง $y_{v(0)}$ คือจำนวนเริ่มต้นของเซลล์ที่มีชีวิต ส่วนจำนวนเซลล์ตายที่สะสมอยู่ภายหลังจาก n ชั่วอายุจะเป็น

$$y_d = 0+2y_{v(0)}(1-\theta)+2y_{v(0)}2\theta(1-\theta)+2y_{v(0)}(2\theta)^2(1-\theta)+\cdots + 2y_{v(0)}(2\theta)^{n-1}(1-\theta) \qquad 7.24$$

พจน์ (term) ต่อเนื่องในสมการที่ 7.24 หมายถึงการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ตายที่แต่ละชั่วอายุและจำนวนเริ่มต้นของเซลล์ตายมีค่าเป็นศูนย์ สมการที่ 7.24 มีลักษณะเป็นอนุกรมเรขาคณิต (geometrical progression) โดยมี 2θ เป็นสัดส่วนคงที่ ผลรวมของลำดับ

อนุกรมจะได้ว่า

$$y_d = 2(1-\theta)\frac{\{1-(2\theta)^n\}}{1-2\theta}\cdot y_{v(0)} \qquad 7.25$$

ในขณะที่ $n \to \infty$ เมื่อ $\theta > 0{\cdot}5$, $1-(2\theta)^n \to -(2\theta)^n$ และ

$$y_d \to \frac{2(\theta-1)(2\theta)^n}{1-2\theta}\cdot y_{v(0)} \qquad 7.26$$

สัดส่วนจำนวนประชากรที่มีชีวิตทั้งหมดภายหลังจาก n ชั่วอายุจะถูกกำหนดได้เป็น

$$\beta = \frac{y_{v(0)}(2\theta)^n}{y_{v(0)}(2\theta)^n + y_d} \qquad 7.27$$

แทนค่า y_d จากสมการที่ 7.26 จะได้ว่าในขณะที่ $n \to \infty$ ค่าของ $\beta \to (2\theta-1)$ นั่นก็คือค่าที่ได้จากการหมักแบบคงที่ทางเคมีเมื่ออยู่ในสถานะมั่นคงดังสมการที่ 7.22

อัตราการเจริญเติบโตของประชากรที่มีชีวิตถูกกำหนดได้โดย

$$dy_v = \mu y_v 2\theta.dt - \mu y_v.dt \qquad 7.28$$

$\mu y_v 2\theta.dt$ หมายถึงจำนวนเซลล์มีชีวิตที่เพิ่มขึ้นภายหลังจากการแบ่งตัว $\mu\, dt$ ครั้ง และ $\mu y_v.dt$ หมายถึงจำนวนเซลล์เก่าที่สูญหายไปเนื่องจากการแบ่งตัว ดังนั้นอัตราความเร็วในการเจริญเติบโตของประชากรเซลล์ที่มีชีวิตคือ

$$dy_v/dt = (2\theta-1)\mu y_v \qquad 7.29$$

อินทีเกรตสมการที่ 7.29 จะได้ว่า

$$\ln y_v = \ln y_{v(0)} + (2\theta-1)\mu t \qquad 7.30$$

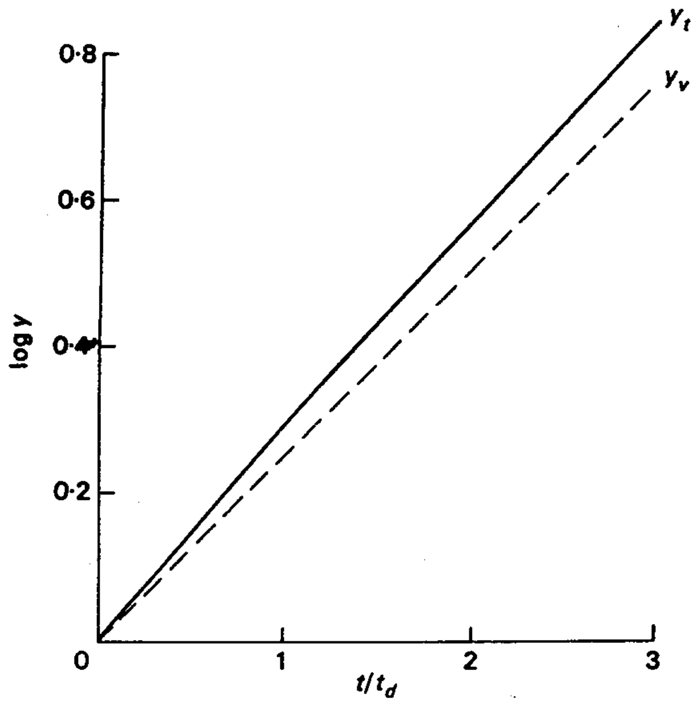
สมการที่ 7.30 แสดงว่าจำนวนประชากรที่มีชีวิตจะเพิ่มขึ้นแบบขยายเพื่อทำให้ $\theta > 0{\cdot}5$ และอัตราความเร็วในการเจริญเติบโตเฉพาะที่ปรากฏคือ $(2\theta-1)\mu$ ซึ่งจะมีค่าเข้าใกล้ $\beta\mu$ ในขณะที่จำนวนชั่วอายุเพิ่มขึ้น

อัตราความเร็วในการเจริญเติบโตของประชากรเซลล์ทั้งหมดถูกกำหนดได้เป็น

$$dy_t/dt = \mu\beta y_t \qquad 7.31$$

หลังจากบางชั่วอายุเมื่อ $\theta > 0{\cdot}5$ ค่าของ β จะกลายเป็นค่าเกือบคงที่และอัตราความเร็วในการเจริญเติบโตเฉพาะของประชากรทั้งหมดจะมีค่าเข้าใกล้กับอัตราความเร็วในการ

เจริญเติบโตเฉพาะที่ปรากฏของประชากรที่มีชีวิต ผลของการเกิดเซลล์ตายได้แสดงไว้ในรูปที่ 7.1 และได้เป็นที่ประจักษ์แล้วว่าเมื่อ $\theta = 0{\cdot}9$ ภายหลังจากเพียงแค่สามชั่วอายุค่าความลาดเอียงของเส้นกราฟแสดงการเจริญเติบโตของเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ที่ตายแล้วเกือบจะเหมือนกัน และ β มีค่าเข้าใกล้เกือบถึงค่าสุดท้ายของตนคือ 0.8



รูปที่ 7.1 Plot of logarithm of viable count (y_v) and total count (y_t) in a batch culture when the viability index (θ) = 0·9. The fraction viable (β) tends to 0·8. The abscissa gives t/t_d where t = time and t_d = true doubling time, that is $(\ln 2)/\mu$.

7.4 ผลกระทบจากเซลล์ตายต่อการเจริญเติบโต

การวิเคราะห์ต่อไปถูกใช้เพื่อทำนายผลกระทบจากเซลล์ตายต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ การหมักแบบคงที่ทางเคมีอาจถูกใช้เป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์ในการศึกษาถึงผลกระทบจากเซลล์ตายต่ออัตราความเร็วในการเจริญเติบโต แต่เป็นที่น่าสังเกตุว่าค่าสูงสุดของอัตราการตายเฉพาะเมื่ออยู่ในสถานะมั่นคงถูกจำกัดโดย $(\mu_m - D)$

การตายของเซลล์อาจมีผลทำให้เซลล์แตกหรือปลดปล่อยสิ่งที่อยู่ภายในเซลล์ออกมาอยู่ในสื่อกลางอาหารจึงสามารถเปลี่ยนแปลงสภาวะทางโภชนาการและผลของเมตาโบลิซึมและอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ที่อยู่รอดได้ (Postgate & Hunter, 1962).