



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113151143 A

(43) 申请公布日 2021.07.23

(21) 申请号 202110424833.0

(22) 申请日 2021.04.20

(71) 申请人 湖南安泰康成生物科技有限公司  
地址 410205 湖南省长沙市高新开发区尖  
山湖社区延龙路72号2号楼第7层

(72) 发明人 常九生 陈凌 陈迪康 周单

(74) 专利代理机构 北京市中伦律师事务所  
11410

代理人 王奕勋

(51) Int. Cl.

G12N 5/00 (2006.01)

G12N 13/00 (2006.01)

G12M 3/00 (2006.01)

G12M 1/42 (2006.01)

G12M 1/34 (2006.01)

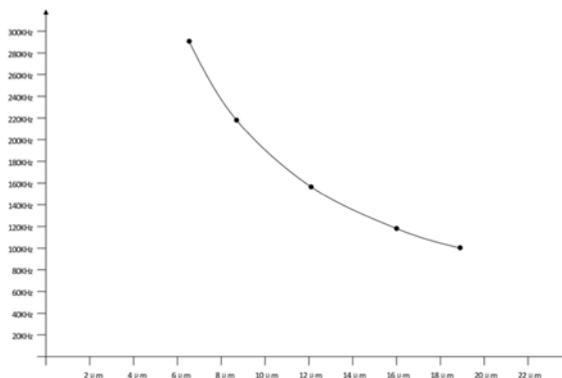
权利要求书2页 说明书6页 附图3页

(54) 发明名称

一种用敏感频率电场抑制病变组织细胞生长的方法和装置

(57) 摘要

本发明提供了一种用敏感频率电场抑制病变组织细胞生长的方法和装置,所述方法包括以下步骤:获取所述病变组织细胞并进行培养;在所述培养后,测量病变组织细胞的细胞半径;基于测得的所述细胞半径来选择敏感频率,以及使用具有所述敏感频率的电场来处理病变组织。同时,还可以结合实测抑制病变组织细胞生长来选择最佳敏感频率。相比于现有技术中的电场抑制病变组织生长的方法,使用本发明的方法和装置能够更加快速准确地找到适用于特定病变组织细胞的敏感频率,还能够根据病变组织细胞的发展及时进行敏感频率的跟踪校正,处理效果较传统固定频率更加显著,从而开辟个体化应用方案。



1. 一种用敏感频率电场抑制病变组织细胞生长的方法,其特征在于,所述方法包括以下步骤:

- (1) 获取所述病变组织细胞并进行培养;
- (2) 在所述培养后,测量病变组织细胞的细胞半径;
- (3) 基于测得的所述细胞半径来选择敏感频率;以及
- (4) 使用具有所述敏感频率的电场来处理病变组织细胞。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述病变组织细胞是通过从病变组织样本中分离的方式来获取的。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述培养包括但不限于原代培养或PDX模型建立,从而获得可进行半径测量的细胞数量。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述细胞半径的测量通过用流式细胞仪估算、细胞计数仪测量、或在显微镜下用目镜微尺测量的方式来进行。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述测量进行两次或更多次,并将所述两次或更多次的测量值计算平均值作为所述细胞半径的值。

6. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述选择敏感频率包括:通过绘图法或算法来确定所述敏感频率。

7. 根据权利要求6所述的方法,其特征在于,所述算法包括将测得的所述细胞半径代入公式 $f=k/l$ 中以得到所述敏感频率,其中 $l$ 表示细胞半径, $f$ 表示敏感频率,并且 $k$ 为常数。

8. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述选择敏感频率包括:通过绘图法或算法来确定预敏感频率,并在预敏感频率 $\pm 50\%$ 的频率范围内通过敏感频率试验确定所述敏感频率。

9. 根据权利要求8所述的方法,其特征在于,所述敏感频率试验包括:设置具有在所述频率范围内的不同频率的多个电场来进行抑制病变组织细胞生长的实验,并且基于抑制效果,选择抑制病变组织细胞生长效果最好的频率作为所述敏感频率。

10. 根据权利要求9所述的方法,其中,当出现两个相邻频率的电场抑制效果相当时,取所述两个相邻频率的平均值作为所述敏感频率。

11. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述处理包括使用不小于 $0.7V/cm$ 的电场强度每天处理不少于18小时。

12. 根据权利要求1所述的方法,其中,在步骤(4)执行预定时间后,重复执行步骤(1)至步骤(4)。

13. 根据权利要求12所述的方法,其中,所述预定时间为1-10天。

14. 一种用敏感频率电场抑制病变组织细胞生长的装置,其特征在于,所述装置包括:

电场发生装置,其用于施加所述电场;

电环境培养装置,其用于在电环境下培养所述病变组织细胞;

玻片,其放置在所述电场发生装置中并用于承载培养后的病变组织细胞;以及

细胞半径测量器,其用于对所述病变组织细胞的细胞半径进行测量。

15. 根据权利要求14所述的装置,其中,所述电场发生装置内设置有能够将电信号施加到培养液中的电信号施加介质单元,所述电信号施加介质单元的一端接触培养液,且另一端为导电电极。

16. 根据权利要求14所述的装置,其中,所述电场发生装置内设置有电场调节装置,所述电场调节装置用于调节电场频率和强度。

17. 根据权利要求14所述的装置,其中,所述细胞半径测量器选自流式细胞仪、细胞计数仪、或具有目镜微尺的显微镜。

18. 根据权利要求14所述的装置,其中,所述施加电场包括依次在多个不同方向上施加电场。

## 一种用敏感频率电场抑制病变组织细胞生长的方法和装置

### 技术领域

[0001] 本发明属于医疗生物技术领域,更具体地,本发明通常涉及一种用敏感频率电场抑制病变组织细胞生长的方法和装置。

### 背景技术

[0002] 当恶性病变进入发展期时,病变组织细胞处于快速生长的状态,数量与时间呈指数关系。目前肿瘤电场治疗法的基本原理均建立在电场对肿瘤细胞有丝分裂具有阻碍破坏作用的基础上,使用200KHz的电信号产生的电场对患者肿瘤细胞的快速生长进行抑制,以达到治疗效果。在细胞实验中发现,用不同频率的电信号产生的电场对多位患者的肿瘤细胞快速生长进行抑制,抑制效果各不相同,有的150KHz效果好,有的180KHz效果好,有的200KHz效果好,有的220KHz效果好,有的240KHz效果好,200KHz是对肿瘤细胞快速生长有抑制作用频率段的中心频率,但对于个体患者而言,不一定是最好的,甚至有的患者的肿瘤细胞对200KHz电信号产生的电场不敏感,导致抑制效果达不到治疗的需要。

[0003] 通过进一步的实验表明,同一位患者的病情进展到不同阶段时,其病变组织细胞的敏感频率也有不同,多数患者的病变组织细胞的敏感频率是随着病情的进展有变低的趋势。使用敏感频率产生的电场对患者的病变组织细胞进行抑制,效果要比使用目前的统一固定频率好。如果能够根据病情的发展及时进行敏感频率跟踪校正,效果会更加显著。因此可以得出使用有针对性的敏感频率产生的电场对患者的病变组织进行抑制,效果比统一频率要好。

[0004] 因此,基于目前的情况来看,快速找到适用于不同患者在不同时期的敏感频率变成非常重要,这样可以大幅提高治疗的效率。然而,在现有技术中,在确定不同的病变组织最佳的抑制生长电场频率方面仍存在过程复杂或结果不准确等不足。使用敏感频率电场抑制病变组织细胞生长的治疗方法应用于临床后,将会明显提高肿瘤电场疗法的效果。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的在于克服目前的现有技术在抑制不同个体、不同阶段病变组织细胞使用统一频率而带来的效果不好,以及测量抑制细胞生长电场的敏感频率时存在过程复杂或结果不精确等缺陷,从而提供一种新型的用敏感频率电场抑制病变组织细胞生长的方法。本发明人发现,即便对半径相同的不同细胞系的细胞进行抑制增值电场敏感频率试验,半径相同的不同细胞系的细胞表现出基本相同的敏感频率,即细胞的敏感频率与细胞的半径(或者细胞体积)有关,与细胞的种类无明显关系,从而完成了本发明。

[0006] 为了实现上述目的,在一方面,本发明提供了一种用敏感频率电场抑制病变组织细胞生长的方法,其特征在于,所述方法包括以下步骤:(1)获取所述病变组织细胞并进行培养;(2)在所述培养后,测量病变组织细胞的细胞半径;(3)基于测得的所述细胞半径来选择敏感频率;以及(4)使用具有所述敏感频率的电场来处理病变组织细胞。

[0007] 另一方面,本发明提供了一种选择电场抑制病变组织细胞生长的敏感频率的方

法,其特征在于,所述方法包括以下步骤:(1)获取所述病变组织细胞并进行培养;(2)在所述培养后,测量病变组织细胞的细胞半径;(3)基于测得的所述细胞半径来选择敏感频率。

[0008] 对于步骤(1),在本发明的一个优选实施方式中,所述病变组织细胞可以通过从病变组织样本中分离的方式来获取的。根据本发明,对所述分离的方式没有特别的限制,可以使用本领域中常见的细胞提取技术来实现。

[0009] 例如,在一个实施方式中,可以将病变组织样本尽量剪碎,以形成小碎块,然而向培养皿中加入Trypsin-EDTA (0.25%),37°C下孵育2-3min,随后加入培养基(DMEM+10% FBS)终止消化,再将细胞过细胞筛网去除多余的组织残渣,将过滤后的细胞转移至离心管,以制备细胞悬液。其中,Trypsin-EDTA胰酶是本领域最常用的细胞分离试剂,为223个氨基酸组成的单链多肽,是胰蛋白酶原(zhitrypsinogen)在Lys6和Ile7之间切除氨基N末端6肽得到。

[0010] 在本发明的一个优选实施方式中,所述培养可以包括但不限于原代培养或PDX模型建立,从而获得可进行半径测量的细胞数量。在一个实施方式中,所述原代培养可以获得与病变组织样本中的病变组织细胞性能最匹配的细胞,相比之下,传代培养或细胞系培养往往与原代细胞有不一样的遗传和表型,比如某些基因表达会增高或降低,细胞表面抗原等都有可能发生变化,细胞系经过体外无数次培养传代,遗传性状已经与体内细胞发生了明显变化。另外,对培养后的细胞数量没有特殊的要求,只要能够用于进行后续的细胞半径(或细胞体积)测量即可。

[0011] 对于步骤(2),在本发明的一个优选实施方式中,所述细胞半径(或细胞体积)的测量可以通过用流式细胞仪估算、细胞计数仪测量、或在显微镜下用目镜微尺测量的方式来进行,但不限于此,该测量也可以通过本领域中其他常用的细胞半径测量方法来进行。另外,所述细胞半径的测量可以通过测量单个细胞的半径、或通过测量多个细胞的半径然而除以细胞数量的方式来进行。

[0012] 进一步地,为了测得更准确的细胞半径,可以进行多次测量来得到一个更准确的结果值。例如,在本发明的另一个优选实施方式中,所述测量可以进行两次或更多次,并将所述两次或更多次的测量值计算平均值作为所述细胞半径的值。

[0013] 对于步骤(3),由于本发明人发现细胞的敏感频率与细胞的半径有关,与细胞的种类无明显关系,因而可以基于测得的所述细胞半径来选择敏感频率。具体地,基于细胞半径和敏感频率试验的测试结果发现,细胞半径与电场频率存在一定的反比例关系,细胞半径越大,敏感频率越低;反之,细胞半径越小,敏感频率越高。

[0014] 在本发明的一个优选实施方式中,所述选择敏感频率可以包括:通过绘图法或算法来确定所述敏感频率。

[0015] 图1示出了根据本发明一个实施方式得到的敏感频率与细胞半径的关系图。由于敏感频率与细胞半径二者之间的关系还可能受到不同实验人员或装置以及其他因素的影响,在进行步骤(3)时,可以使用如图1所示的关系图和公式来得到选择敏感频率,或者基于当前实验人员习惯的方式重新获得示出二者关系的标准曲线图和公式,然而再选择敏感频率。

[0016] 根据本发明,所述绘图法表示基于横坐标中的细胞半径对应地在曲线中寻找纵坐标中的频率值作为敏感频率,而所述算法表示基于细胞半径和根据图像中敏感频率与细

胞半径的公式直接计算频率值作为敏感频率。

[0017] 在本发明的一个优选实施方式中,所述算法可以包括将测得的所述细胞半径代入公式 $f=k/l$ 中以得到所述敏感频率,其中 $l$ 表示细胞半径,并且 $f$ 表示敏感频率, $k$ 为常数。在一种优选的实施方式中, $k$ 可以为 $1700-2100\text{KHz} \cdot \mu\text{m}$ 、 $1800-2000\text{KHz} \cdot \mu\text{m}$ 、更优选地 $1900\text{KHz} \cdot \mu\text{m}$ 。由于患者病变组织细胞的大小不是均匀的,个体之间在形状大小都存在差异,因此本发明所提供的 $k$ 值只是例示性的,对于其他瘤种的 $k$ 值也会略微存在差异。另外,使用算法与绘图法得到的结果可能略有误差,但二者非常接近,为实验和临床上便于操作,敏感频率通常可以取尾数为0或5的整数中间值。

[0018] 另外,本发明所提供的基于细胞半径选择敏感频率的方法还可以与敏感频率试验联合使用。例如,具体地,首先通过本发明提供的基于细胞半径选择敏感频率的方法寻找敏感频率的一个粗略点(或称为预敏感频率),然而再通过敏感频率试验对该预敏感频率附近的各频率值进行定量测量,从更精确地寻找最适于该病变组织细胞的敏感频率。例如,在本发明的一个优选实施方式中,所述选择敏感频率可以包括:通过绘图法或算法来确定预敏感频率,并在预敏感频率 $\pm 50\%$ 的频率范围内(例如预敏感频率 $+10\%$ 、 $+20\%$ 、 $+30\%$ 、 $-10\%$ 、 $-20\%$ 和 $-30\%$ 等)或 $\pm 100\text{KHz}$ 的频率范围内(例如预敏感频率 $+20\text{KHz}$ 、 $+50\text{KHz}$ 、 $+80\text{KHz}$ 、 $-20\text{KHz}$ 、 $-50\text{KHz}$ 和 $-80\text{KHz}$ 等)通过敏感频率试验确定所述敏感频率。

[0019] 根据本发明所述的敏感频率试验表示通过用具有不同频率的多个电场对病变组织细胞进行处理,并根据处理后病变组织细胞的大小确定具有最佳抑制效果的敏感频率。在本发明的一个优选实施方式中,所述敏感频率试验可以包括:设置具有在所述频率范围内的不同频率的多个电场来进行抑制病变组织细胞生长的实验,并且基于抑制效果,选择抑制病变组织细胞生长效果最好的频率作为所述敏感频率。另外,如果当出现两个相邻频率的电场抑制效果相当时,可以取所述两个相邻频率的平均值作为所述敏感频率。

[0020] 对于步骤(4),可以基于通过如前所述方法得到的敏感频率,使用具有该敏感频率的电场来处理病变组织细胞,从而达到抑制病变组织细胞生长的效果。在本发明的一个优选实施方式中,所述处理可以包括使用不小于 $0.7\text{V/cm}$ (例如 $1\text{V/cm}$ 、 $1.5\text{V/cm}$ 、 $2\text{V/cm}$ 或 $3\text{V/cm}$ 等)的电场强度每天处理不少于18小时(例如20小时、22小时或24小时等)。

[0021] 根据本发明,考虑到在处理所述病变组织细胞的过程中,病变组织细胞还可能发生变异行为,其敏感频率可能因此发生改变,因此可以定期对敏感频率的选择进行改变。例如,在本发明的一个优选实施方式中,在步骤(4)执行预定时间后,可以重复执行步骤(1)至步骤(4),特别地,所述预定时间可以为1-10天(例如2、3、4、5、6、7、8或9天等)。

[0022] 另一方面,本发明还提供了一种用敏感频率电场抑制病变组织细胞生长的装置,其特征在于,所述装置包括:电场发生装置,其用于施加所述电场;电环境培养装置,其用于在电环境下培养所述病变组织细胞;玻片,其放置在所述电场发生装置中并用于承载培养后的病变组织细胞;以及细胞半径测量器,其用于对所述病变组织细胞的细胞半径进行测量。

[0023] 具体地,可以将获取的病变组织细胞放置在电环境培养装置中进行培养,培养后通过分离取细胞悬液,用细胞半径测量器测量半径,然后将另一部分均匀涂抹在玻片表面,将玻片放置在电场发生装置中,通过电场发生装置施加不同频率的电场,经过电场刺激后再次收集细胞悬液,离心弃上清液,重悬混匀,制成新的细胞悬液,进行细胞计数。

[0024] 在本发明的一个优选实施方式中,所述电场发生装置内可以设置有能够将电信号施加到培养液中的电信号施加介质单元,所述电信号施加介质单元的一端接触培养液,且另一端为导电电极。在本发明的另一个实施方式中,所述电场发生装置内可以设置有电场调节装置,所述电场调节装置用于调节电场频率和强度。在本发明的另一个实施方式中,所述细胞半径测量器可以选自流式细胞仪、细胞计数仪、或具有目镜微尺的显微镜,但不限于此。另外,根据本发明,所述施加电场的方式可以是多样的,例如,所述施加电场可以包括依次在多个不同方向上施加电场,并且这些多个不同方向上施加的电场的施加顺序可以是任意顺序,没有特别限制。

[0025] 相比于现有技术中的使用敏感频率电场抑制病变组织细胞生长的方法,使用本发明的方法和装置能够更加快速准确地找到适用于特定病变组织细胞的敏感频率,另外,还能够根据病变组织细胞的发展及时进行敏感频率的跟踪校正,处理效果比统一频率情况下的效果更加显著。

### 附图说明

[0026] 附图是用来提供对本发明的进一步理解,并且构成说明书的一部分,与下面的具体实施方式一起用于解释本发明,但并不构成对本发明的限制。在附图中:

[0027] 图1示出了根据本发明的一个实施方式的病变组织细胞的半径和敏感频率的关系曲线图;

[0028] 图2示出了根据本发明的实施例1的病变组织细胞敏感频率试验结果;

[0029] 图3示出了根据本发明的实施例2的病变组织细胞敏感频率试验结果;并且

[0030] 图4示出了根据本发明的实施例3的病变组织细胞敏感频率试验结果。

### 具体实施方式

[0031] 以下对本发明的具体实施方式进行详细说明。应当理解的是,此处所描述的具体实施方式仅用于说明和解释本发明,并不用于限制本发明。

[0032] 在本文中所披露的范围的端点和任何值都不限于该精确的范围或值,这些范围或值应当理解为包含接近这些范围或值的值。对于数值范围来说,各个范围的端点值之间、各个范围的端点值和单独的点值之间,以及单独的点值之间可以彼此组合而得到一个或多个新的数值范围,这些数值范围应被视为在本文中具体公开。

[0033] 以下由特定的具体实施例说明本发明的实施方式,熟悉此技术的人士可由本说明书所揭露的内容轻易地了解本发明的其他优点及功效,显然,所描述的实施例是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0034] 实施例1通过绘图法选择敏感频率

[0035] 获取患者病变(胶质瘤)组织标本1,包括通过切除手术获取的病变组织细胞,以及通过介入穿刺手术获取的病变组织标本,对病变组织细胞进行培养,使病变组织细胞生长、分裂、增殖,以获得一定数量的病变组织细胞。

[0036] 首先取培养至80%以上融合度的T75培养瓶一瓶,丢弃培养基,然而加入Trypsin-EDTA(0.25%),37℃,孵育2-3min,随后加入培养基(DMEM+10%FBS)终止消化。在离心机中

离心五分钟,加入专用培养基,调节细胞浓度 $1-2 \times 10^5/\text{ml}$ 。将玻片灭菌后,置于电环境培养装置中,每片加细胞悬液,使细胞悬液均匀分布于玻片表面。将玻片置于 $37^\circ\text{C}$ 饱和湿度培养箱中2-4h后,补充专用培养基,再置于 $37^\circ\text{C}$ 、饱和湿度的培养箱中培养。

[0037] 通过目镜微尺分别对同一玻片上不少于三个区域进行细胞测量,每个区域测量的细胞数不少于三个,并将这些细胞的半径相加后,再除以细胞数量得到平均值,计算得到平均值为 $9.5\mu\text{m}$ ,并基于图1所示的曲线图得出该病变组织细胞的敏感频率为200KHz。

[0038] 将病变组织细胞分为六组,第一组是不施加电场的对照组,第二组施加160KHz,第三组施加180KHz,第四组施加200KHz,第五组施加220KHz,第六组施加240KHz,电场场强大小设置为 $2.2\text{v}/\text{cm}$ ,电场作用时间72h(每天24h,共3天)。细胞通过电场处理后,胰酶消化,将细胞悬液收集到离心管中,进行离心,丢弃上清液,重悬混匀,制成细胞悬液,进行细胞计数。

[0039] 结果统计如图2所示,第四组的OD值明显低于其他组,对照组的最高,说明第四组使用的频率在几个频率中是抑制该病变组织细胞生长的最佳频率,即敏感频率。

[0040] 实施例2通过计算法选择敏感频率

[0041] 获取患者病变组织组织标本2,包括通过切除手术获取的病变组织细胞,以及通过介入穿刺手术获取的病变组织标本,对病变组织细胞进行培养,使病变组织细胞生长、分裂、增殖,以获得一定数量的病变组织细胞。

[0042] 首先取培养至80%以上融合度的T75培养瓶一瓶,丢弃培养基,然而加入Trypsin-EDTA(0.25%), $37^\circ\text{C}$ ,孵育2-3min,随后加入培养基(DMEM+10%FBS)终止消化。在离心机中离心五分钟,加入专用培养基,调节细胞浓度 $1-2 \times 10^5/\text{ml}$ 。将玻片灭菌后,置于电环境培养装置中,每片加细胞悬液,使细胞悬液均匀分布于玻片表面。将玻片置于 $37^\circ\text{C}$ 饱和湿度培养箱中2-4h后,补充专用培养基,再置于 $37^\circ\text{C}$ 、饱和湿度的培养箱中培养。

[0043] 通过目镜微尺分别对同一玻片上不少于三个区域进行细胞测量,每个区域测量的细胞数不少于三个,并将这些细胞的半径相加后,再除以细胞数量得到平均值,例如计算得到平均值为 $9.5\mu\text{m}$ ,并基于常数k为 $1900\text{KHz} \cdot \mu\text{m}$ 计算得该病变组织细胞的敏感频率为200KHz。

[0044] 将病变组织细胞分为六组,第一组是不施加电场的对照组,第二组施加160KHz,第三组施加180KHz,第四组施加200KHz,第五组施加220KHz,第六组施加240KHz,电场场强大小设置为 $1.8\text{v}/\text{cm}$ ,电场作用时间72h(每天18h,共4天)。细胞通过电场处理后,胰酶消化,将细胞悬液收集到离心管中,进行离心,丢弃上清液,重悬混匀,制成细胞悬液,进行细胞计数。

[0045] 结果统计如图3所示,使用200KHz的第四组的OD值明显低于其他组,说明第四组使用的频率在几个频率中是抑制该病变组织细胞生长的最佳频率,即敏感频率。。

[0046] 实施例3通过绘图法和计算法选择敏感频率

[0047] 获取患者病变组织组织标本3,包括通过切除手术获取的病变组织细胞,以及通过介入穿刺手术获取的病变组织标本,对病变组织细胞进行培养,使病变组织细胞生长、分裂、增殖,以获得一定数量的病变组织细胞。

[0048] 首先取培养至80%以上融合度的T75培养瓶一瓶,丢弃培养基,然而加入Trypsin-EDTA(0.25%), $37^\circ\text{C}$ ,孵育2-3min,随后加入培养基(DMEM+10%FBS)终止消化。在离心机中

离心五分钟,加入专用培养基,调节细胞浓度 $1-2 \times 10^5/\text{ml}$ 。将玻片灭菌后,置于电环境培养装置中,每片加细胞悬液,使细胞悬液均匀分布于玻片表面。将玻片置于 $37^\circ\text{C}$ 饱和湿度培养箱中2-4h后,补充专用培养基,再置于 $37^\circ\text{C}$ 、饱和湿度的培养箱中培养。

[0049] 通过目镜微尺分别对同一玻片上不少于三个区域进行细胞测量,每个区域测量的细胞数不少于三个,并将这些细胞的半径相加后,再除以细胞数量得到平均值。例如计算得到平均值为 $9\mu\text{m}$ ,并基于图1所示的曲线图得出该病变组织细胞的敏感频率为210KHz,基于常数 $k$ 为 $1900\text{KHz} \cdot \mu\text{m}$ 计算得该病变组织细胞的敏感频率为211KHz。在二者非常接近的情况下,为实验和临床上便物操作,取尾数为0或5的整数,因此本实施例中取210KHz。

[0050] 将病变组织细胞分为六组,第一组是不施加电场的对照组,第二组施加170KHz,第三组施加190KHz,第四组施加210KHz,第五组施加230KHz,第六组施加250KHz电场场强大小设置为 $2\text{v}/\text{cm}$ ,电场作用时间60h(每天20h,共3天)。细胞通过电场处理后,胰酶消化,将细胞悬液收集到离心管中,进行离心,丢弃上清液,重悬混匀,制成细胞悬液,进行细胞计数。

[0051] 结果统计如图4所示,使用210KHz的第四组的OD值明显低于其他组,说明第四组使用的频率在几个频率中是抑制该病变组织细胞生长的最佳频率,即敏感频率。

[0052] 以上详细描述了本发明的优选实施方式,但是,本发明并不限于上述实施方式中的具体细节,在本发明的技术构思范围内,可以对本发明的技术方案进行多种简单变型,这些简单变型均属于本发明的保护范围。

[0053] 另外需要说明的是,在上述具体实施方式中所描述的各个具体技术特征,在不矛盾的情况下,可以通过任何合适的方式进行组合,为了避免不必要的重复,本发明对各种可能的组合方式不再另行说明。

[0054] 此外,本发明的各种不同的实施方式之间也可以进行任意组合,只要其不违背本发明的思想,其同样应当视为本发明所公开的内容。

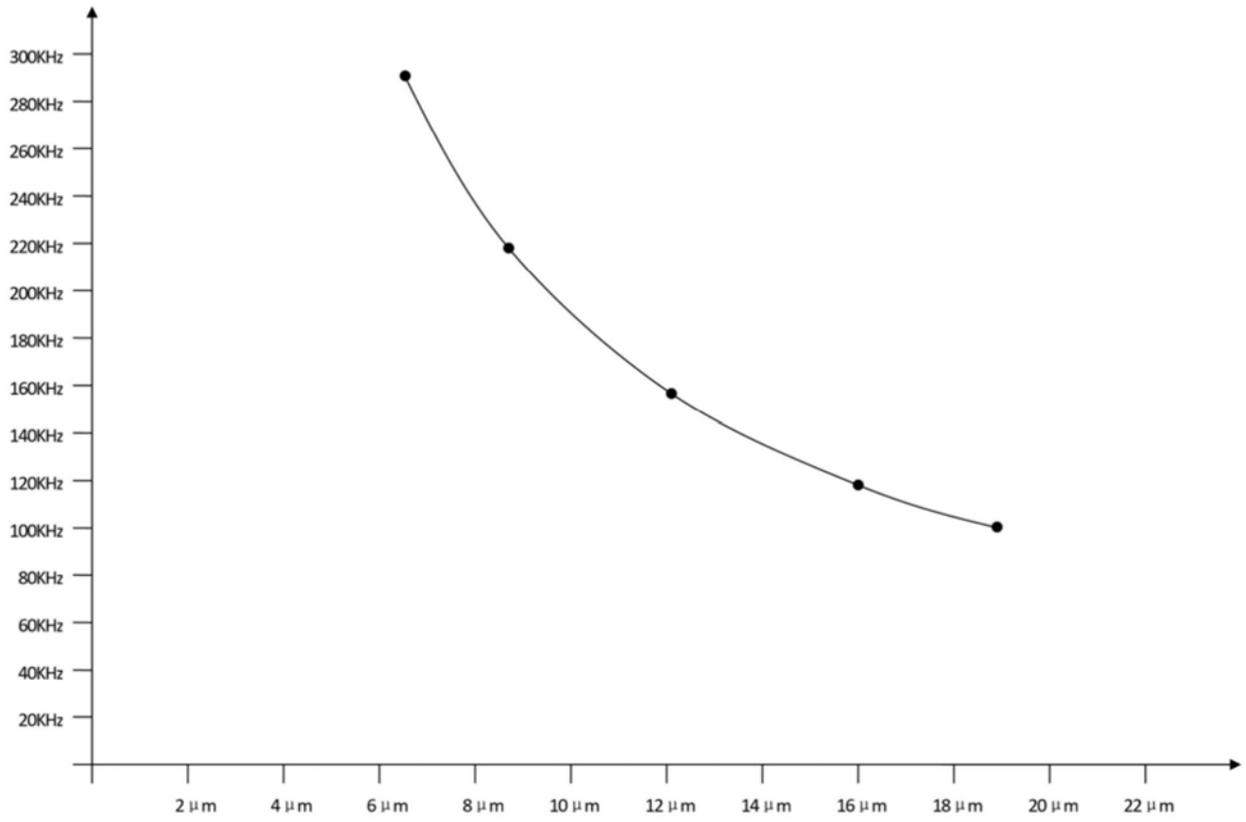


图1

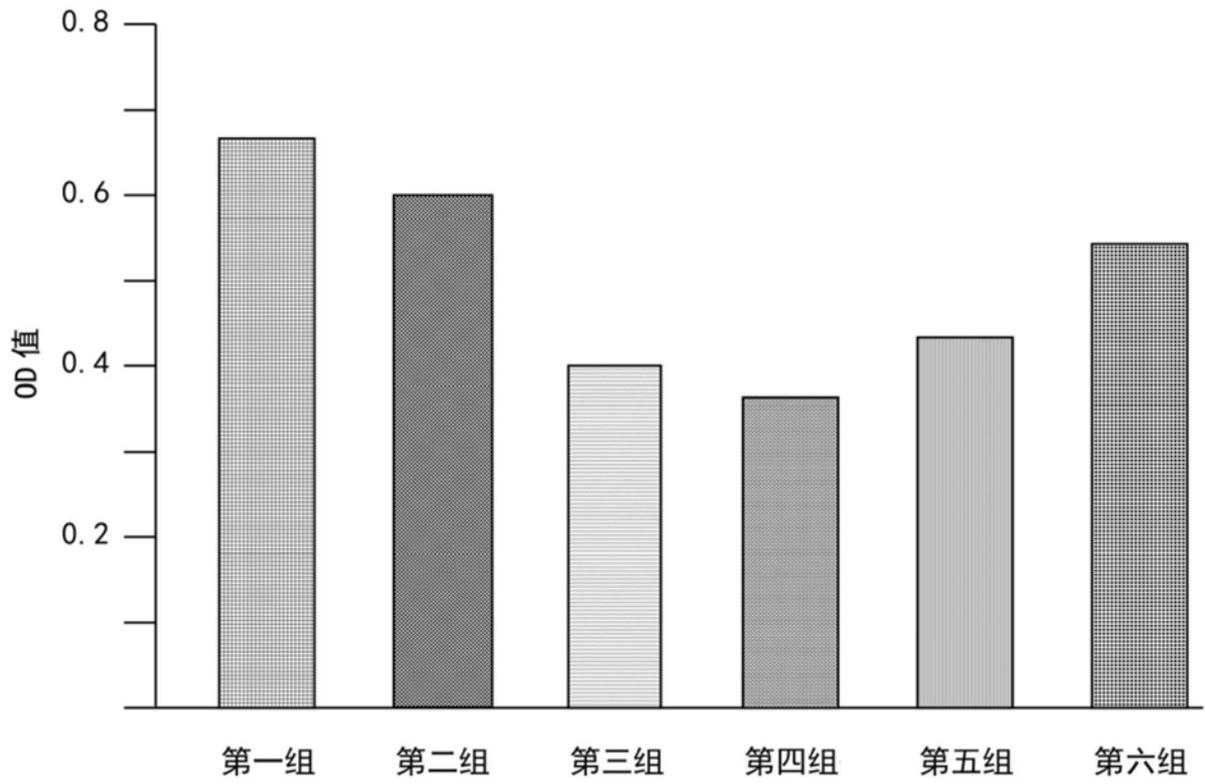


图2

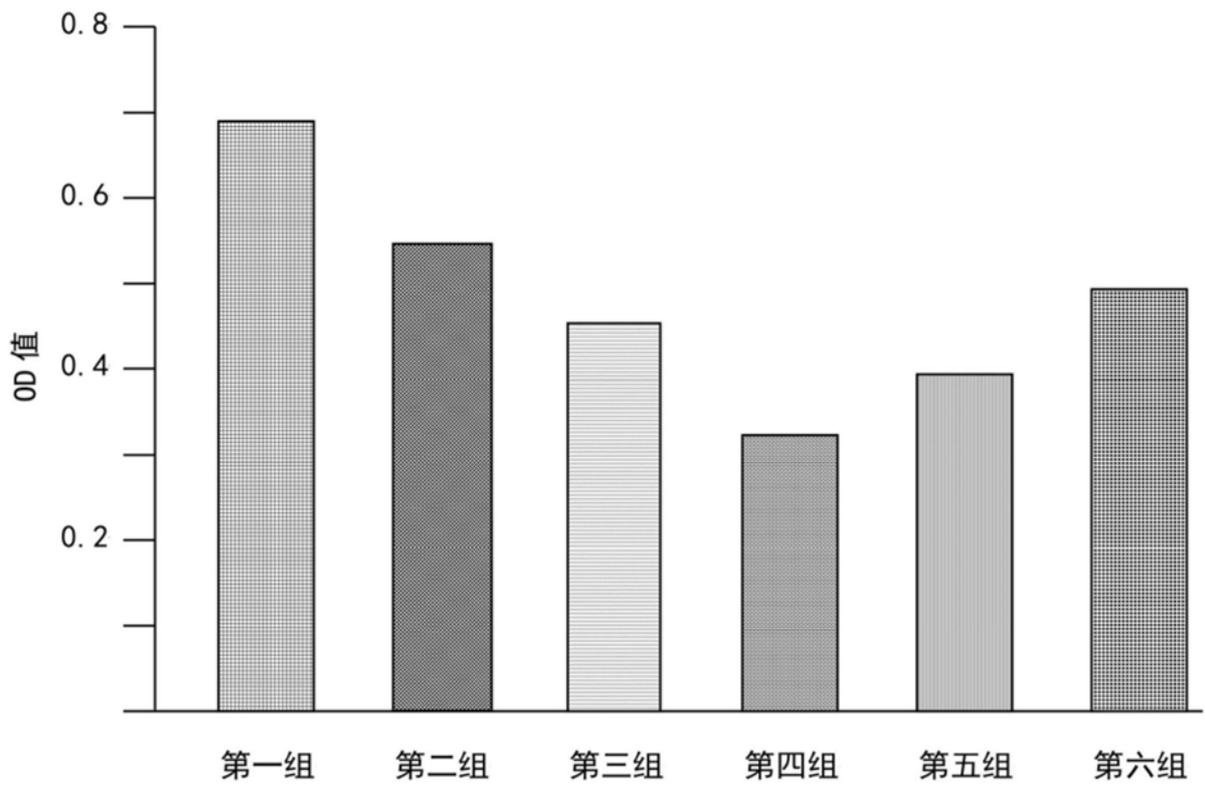


图3

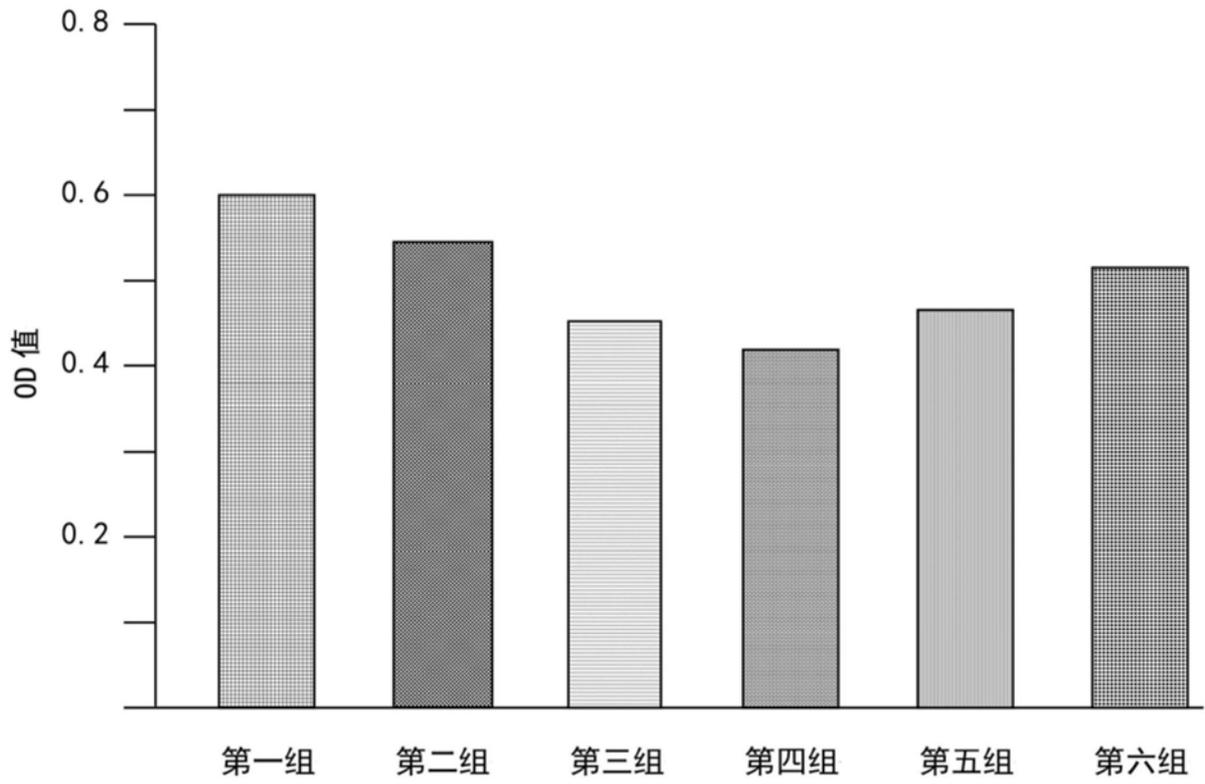


图4