



รายงานการวิจัย

โครงการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्ली
ของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์
และการปลูกถ่ายให้หนูแรทที่มีภาวะไขสันหลังฉีกขาด

Induction of human Wharton's jelly of human umbilical cord
derived mesenchymal stem cells to be neurosphere cells and
transplantation for repairing spinal cord injured in rat model

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

โครงการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จาก
เนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์
และการปลูกถ่ายให้หนูแรทที่มีภาวะไขสันหลังฉีกขาด

Induction of human Wharton's jelly of human umbilical cord
derived mesenchymal stem cells to be neurosphere cells and
transplantation for repairing spinal cord injured in rat model

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ผู้ร่วมวิจัย

รศ. ดร. มารินา เกตุทัต-คาร์นส์

ดร. สุเมธ อัมสุนทรรักษา

สพญ. รังสิรัตน์ วงสรรพ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2562

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

เมษายน 2564

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ทุนงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2562 (งบบูรณาการวิจัยและนวัตกรรม) ซึ่งงานวิจัยสามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือจาก ดร.จิตาภา มุสิกะ, ดร.เกษม ธีระกฤตยากร, Miss Hong Nguyen, นางสาวศิริลักษณ์ สำเร็จงาน และ สมาชิกศูนย์วิจัยเทคโนโลยีตัวอ่อนและเซลล์ต้นกำเนิดทุกท่าน ผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย)

หัวหน้าโครงการวิจัย

เมษายน 2564



บทคัดย่อภาษาไทย

ทำการเก็บตัวอย่างสายรกมนุษย์จากผู้บริจาค 2 ตัวอย่าง แล้วนำมาแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्ली แล้วเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนจนถึง passage 3 แล้วแช่แข็งเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลว ได้เซลล์แช่แข็ง 2 สายพันธุ์ จำนวนสายพันธุ์ละ 200 หลอด หลังจากนั้นได้นำมาตรวจสอบ markers ที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ได้แก่ CD73, CD90, CD105 เป็น positive marker และ CD34, CD 45 เป็น negative marker โดยวิธี Flow cytometry เพื่อนับจำนวน และเพิ่มการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीจากการทดสอบการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์, การทดสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ และการทดสอบการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่น (เซลล์กระดูก เซลล์ไขมัน และ เซลล์กระดูกอ่อน) พบว่ามีเพียง 1 สายพันธุ์ที่ผ่านมาตรฐานการทดสอบคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ซึ่งจะถูกนำไปใช้ในการทดลองต่อไป ในการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์ได้เปลี่ยนเป็นวิธีการวิเคราะห์จากการย้อมเซลล์บนผิวจานเลี้ยงเซลล์มาเป็นการย้อมเซลล์แขวนลอยแล้วนับเซลล์ที่ติดสีย้อมแอนติบอดีด้วยวิธี Flow cytometry ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ดีกว่าเนื่องจากจะทำให้ได้ข้อมูลสัดส่วนจำนวนเซลล์ที่ติดสีย้อมต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมดด้วย เมื่อนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ได้มาเหนี่ยวนำให้ไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ด้วยน้ำยาเหนี่ยวนำที่จำเพาะ แล้วตรวจสอบด้วยการย้อมสีแอนติเจนที่จำเพาะต่อเซลล์นิวโรสเฟียร์ ได้แก่ Nestin, SOX2 และ Beta-tubulin 3 (Tuj1) พบว่ามีเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่เปลี่ยนแปลงไปเป็นนิวโรสเฟียร์แล้วย้อมติด SOX2 จำนวนน้อย แต่มีพบการย้อมติดสี Nestin และ Beta-tubulin 3 (Tuj1) จำนวนมาก หลังจากนั้นได้มีการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารชีวโมเลกุลขนาดเล็ก (P7C3-A20 และ ISX9) ที่จะนำมาใช้เติมลงในน้ำยาที่ใช้เหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ เพื่อให้จำนวนเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ที่แสดงออกในผลการตรวจสอบด้วยการย้อมสีแอนติเจนที่จำเพาะเพิ่มขึ้นในเวลาในการเหนี่ยวนำน้อยลง หลังจากนั้นจะดำเนินการปลูกถ่ายในสัตว์ทดลองต่อไป

Abstract

Two sample of umbilical cord were donated from donors. Wharton's jelly mesenchymal stem cells (WJ-MSCs) were isolated from the umbilical cords and were cultured until passage 3. Mesenchymal stem cells (MSCs) were frozen in liquid nitrogen about 200 straws/sample (cell line). After that both cell lines were characterized with protein expression on cell surface including CD73, CD90, CD105 as positive marker and CD34, CD 45 as negative marker by Flow cytometry. Moreover, the procedure of colony forming unit (CFU), population doubling time (PDt), and differentiation capacity to osteocytes, adipocytes, and chondrocytes were also characterized. The result of protein expression on cell surface in MSCs showed that only one MSCs cell line was included to the experiment, analyzed by Flow cytometry which are the quality results. Then MSCs were induced to be neurosphere by special induction medium. The neurosphere were characterized with protein expression in cytoplasm such as Nestin, SOX2 and Beta-tubulin 3 (Tuj1). The results were displayed low of SOX2 expression. Nonetheless Nestin and Beta-tubulin 3 were displayed high expression by the time of induction. For more efficiency of neurosphere induction medium, small molecule such as P7C3-A20 and ISX9 were test the cytotoxicity with MSCs. On the next step, neurosphere transplantation for repairing spinal cord injured in rat model will be performed.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	1
1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย	2
1.5 เป้าหมายการวิจัย	2
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
2.1 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง	1
2.2 ศักยภาพองค์ความรู้เทคโนโลยีและนวัตกรรมที่จะพัฒนา	2
2.2.1 ขนาดและแนวโน้มของตลาด/โอกาสทางการตลาด	2
2.2.2 ลักษณะเฉพาะ/ความใหม่ของผลงานวิจัยที่แตกต่างจากที่มีในปัจจุบัน	2
2.3 ผลกระทบของโครงการที่มีต่อสังคม ในรูปแบบของการกระจายรายได้ (Income distribution) และการแก้ไขปัญหาของชุมชน	2
2.3.1 ความต้องการของชุมชน/ปัญหาของชุมชน	2
2.3.2 ผลกระทบที่เกิดจากงานวิจัยในรูปแบบของการลดผลกระทบทางลบ หรือขยายผลกระทบทางบวก	1
3 วิธีการดำเนินการวิจัย	1
3.1 การเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीสายรกมนุษย์	1
3.2 การตรวจสอบคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์	1

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.1	การตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ด้วยวิธี Fluorescence-Activated Cell Sorting ด้วยเครื่อง Flow cytometry	1
3.2.2	การเลี้ยงเซลล์และการตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ (Colony forming unit (CFU) assay).....	2
3.2.3	การตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Population doubling time, PDt).....	2
3.2.4	การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ	2
3.3	การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์	1
3.3.1	การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์.....	1
3.3.2	ตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ ด้วยวิธี Immunocytochemistry	1
4	ผลการดำเนินงานวิจัย.....	2
4.1	ผลการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्ली	2
4.1.1	ผลการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ได้จากการเหนี่ยวนำเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्ली โดย Fluorescence-Activated Cell Sorting ด้วยเครื่อง Flow cytometry	2
4.1.2	ผลการตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์.....	2
4.1.3	ผลการตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์.....	2
4.2	การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ	1
4.3	ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์	1
5	อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	1
	บรรณานุกรม	1
	ประวัติผู้วิจัย.....	2

๓
สารบัญตาราง

หน้า

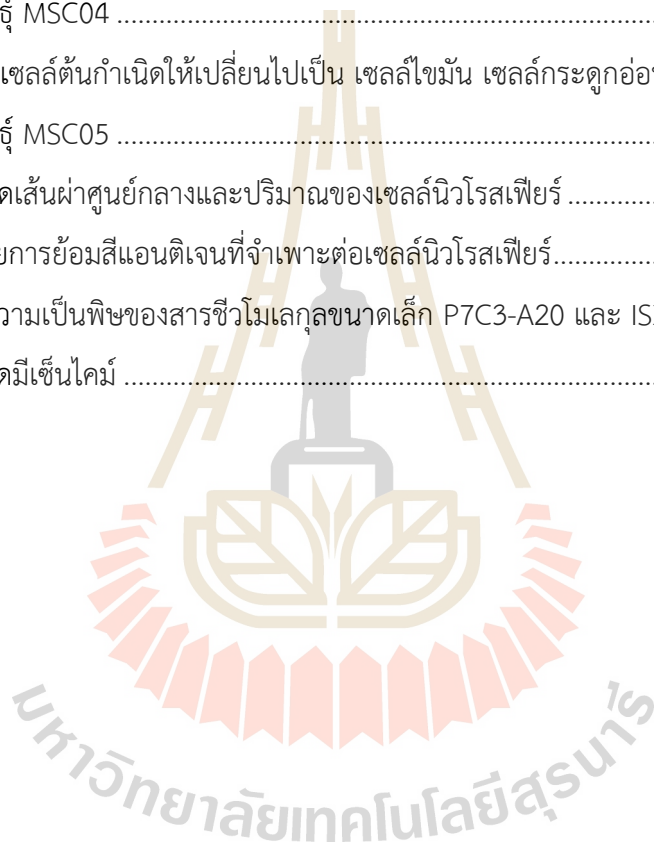
ตารางที่ 1	ร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์จากการวิเคราะห์โดยวิธี Flow cytometry.....	1
------------	--	---



สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธี Flow cytometry ของเซลล์สายพันธุ์ MSC04	1
รูปที่ 2 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธี Flow cytometry ของเซลล์สายพันธุ์ MSC05	1
รูปที่ 3 การสร้างโคลนิกลุ่มเซลล์ของเซลล์สายพันธุ์ MSC04 และ MSC05	2
รูปที่ 4 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์สายพันธุ์ MSC04 และ MSC05	1
รูปที่ 5 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และเซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC04	2
รูปที่ 6 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และเซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC05	2
รูปที่ 7 ค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและปริมาณของเซลล์นิวโรสเฟียร์	1
รูปที่ 8 ผลตรวจสอบด้วยการย้อมสีแอนติเจนที่จำเพาะต่อเซลล์นิวโรสเฟียร์	2
รูปที่ 9 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารชีวโมเลกุลขนาดเล็ก P7C3-A20 และ ISX9 ต่อเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์	2



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (Mesenchymal Stem Cells, MSCs) เป็นเซลล์ที่มีศักยภาพสามารถเพิ่มจำนวนได้ด้วยตัวเอง พร้อมกับพัฒนาไปเป็นเซลล์ต่าง ๆ ได้หลากหลายทั้งเซลล์กระดูก เซลล์กระดูกอ่อน เซลล์ตับ เซลล์ตับอ่อน เซลล์ไขมัน และเซลล์เส้นประสาท ซึ่งสามารถพบได้ในรก น้ำคร่ำ เส้นเลือดและเลือดจากสายสะดือรก รวมถึงเนื้อเยื่ออวัยวะอื่น ๆ ปัจจุบันมีงานวิจัยอย่างต่อเนื่องในการนำไปรักษาโรคความเสื่อมต่าง ๆ ยกตัวอย่างเช่น โรคกระดูกและข้อ โรคหัวใจและหลอดเลือดโรคมะเร็งบางชนิด และ โรคสมอง/ไขสันหลัง หรือ อาการของการบาดเจ็บไขสันหลัง เป็นต้น และมีแนวโน้มการนำคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์เหล่านี้มาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางในทางการแพทย์ ดังนั้นในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้เพื่อประยุกต์การนำเอาเนื้อเยื่ออวัยวะอื่น มาเหนี่ยวนำให้เกิดเซลล์นิวโรสเฟียร์ และนำเซลล์ที่ได้ปลูกถ่ายในหนูแรทที่ทำที่มีภาวะไขสันหลังฉีกขาด เพื่อทำการทดสอบยืนยันความสามารถในการรักษาและความปลอดภัยที่เกิดขึ้นทั้งนี้เพื่อการนำองค์ความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการรักษาในมนุษย์อีกต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อคัดแยกและเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกจากเนื้อเยื่ออวัยวะอื่นของสายรกมนุษย์
2. เพื่อเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่ออวัยวะอื่นของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์
3. เพื่อปลูกถ่ายเซลล์นิวโรสเฟียร์เข้าสู่หนูแรทที่ทำที่มีภาวะไขสันหลังฉีกขาด เพื่อทดสอบความสามารถและความปลอดภัยในการรักษา

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ปัจจุบันมีงานวิจัยอย่างต่อเนื่องในการนำไปรักษาโรคความเสื่อมต่าง ๆ ยกตัวอย่างเช่น โรคกระดูกและข้อ โรคหัวใจและหลอดเลือดโรคมะเร็งบางชนิด และ โรคสมอง/ไขสันหลัง หรือ อาการของการบาดเจ็บไขสันหลัง เป็นต้น และมีแนวโน้มการนำคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์มาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางในทางการแพทย์ โดยการศึกษาในครั้งนี้จะทำการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่ออวัยวะอื่นของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ และทำการปลูกถ่ายเซลล์นิวโรสเฟียร์เข้าสู่หนูแรทที่ทำที่มีภาวะไขสันหลังฉีกขาด เพื่อทดสอบความสามารถและความปลอดภัยในการรักษาด้วยวิธีทางวิทยาศาสตร์ที่หลากหลายและครอบคลุมถึงความปลอดภัย ได้แก่ มิถุนวิทยา (Histology) และ อิมมูโนพยาธิวิทยา (Immunohistochemistry), Cavitation analysis, การตรวจสอบการเชื่อมต่อของซีแนปส์โดยวิธี Retrograde tracing, และ การทดสอบการทำงาน (Functional analysis) เป็นต้น

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

การได้รับบาดเจ็บของไขสันหลังนำมาซึ่งระยะการดูแลรักษาที่ยาวนาน ความพิการ ความสูญเสียชีวิต ฉะนั้นแล้วการรักษาด้วยเทคโนโลยีวิธีเซลล์ต้นกำเนิดบำบัดเป็นอีกทางออกหนึ่งในการรักษา โดยการนำเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीจากสายรกมนุษย์มาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดโดยทำการแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ และนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ทำการเหนี่ยวนำให้เกิดเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ จากนั้นปลูกถ่ายเซลล์นิวโรสเฟียร์เข้าสู่หนูแรทที่ทำที่มีภาวะไขสันหลังฉีกขาด เพื่อทดสอบความสามารถและความปลอดภัยในการรักษา

1.5 เป้าหมายการวิจัย

ได้วิธีการที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเซลล์นิวโรสเฟียร์จากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीของสายรกมนุษย์ และได้กระบวนการที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยในการปลูกถ่ายเซลล์นิวโรสเฟียร์ เพื่อรักษาหนูแรทที่เป็นโมเดลของการเกิดอัมพาตจากไขสันหลังฉีกขาด



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง

การบาดเจ็บไขสันหลัง (Spinal cord injury) เป็นสภาวะที่ไขสันหลังได้รับความกระทบกระเทือนจากแรงภายนอกมากระทำ หรือความผิดปกติของไขสันหลัง เป็นการถูกทำลายของเส้นประสาทไขสันหลัง ที่ส่งผลให้เกิดการสูญเสียหน้าที่ การทำงาน เช่น การเคลื่อนไหว การรับรู้ความรู้สึกของร่างกาย เป็นต้น โดยการบาดเจ็บไขสันหลังเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญ และเป็นภาวะวิกฤตของชีวิตซึ่งมีผลกระทบต่อสุขภาพของประชากรทำให้เกิดการสูญเสียชีวิต และทุพพลภาพ โดยทั่วโลกพบว่ามีประชากรมนุษย์ที่ประสบภาวะการบาดเจ็บไขสันหลังประมาณ 250,000 - 500,000 คน (Silva, 2014) ฉะนั้นแล้วการรักษาด้วยเทคโนโลยีวิธีเซลล์ต้นกำเนิดบำบัดเป็นอีกทางออกหนึ่งในการรักษา ที่ซึ่งมีงานวิจัย และได้รับการยอมรับว่าสามารถนำมาประยุกต์ใช้รักษาโรคต่างๆ ได้เป็นอย่างดี เช่น การค้นพบว่า เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ เป็นเซลล์ที่มีศักยภาพสามารถเพิ่มจำนวนได้ด้วยตัวเอง พร้อมกับพัฒนาไปเป็นเซลล์ต่างๆ ได้หลากหลายทั้งเซลล์กระดูก เซลล์กระดูกอ่อน เซลล์ตับ เซลล์ตับอ่อน เซลล์ไขมัน และเซลล์เส้นประสาท ที่มีคุณสมบัติพิเศษ ในการกดภูมิคุ้มกัน (immunosuppressive) คุณลักษณะของเซลล์ที่แสดงออกมา สามารถเป็นส่วนสำคัญในกระบวนการ allogeneic cell therapy (Pelizzo และคณะ, 2015; Toyoshima และคณะ, 2015; Xue และคณะ, 2015) โดยสามารถเก็บได้จากเนื้อเยื่อโตเต็มวัย เช่น ไขกระดูก และ เส้นเลือดและเลือดจากสายสะดือรก แต่ตัวอย่างเนื้อเยื่อเหล่านี้จะได้จำนวนเซลล์ที่น้อย และศักยภาพในการแบ่งตัวต่ำซึ่งขึ้นอยู่กับอายุ อีกทั้งมีโอกาสสูงในการติดเชื้อไวรัส (Rao และ Mattson, 2001; Goodwin และคณะ, 2001; Kakinuma และคณะ, 2003) ในส่วนของการเก็บจากแหล่งอื่นๆ เช่น เนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्ली หรือที่เรียกว่า human Wharton's jelly-derived MSCs (hWJ-MSCs) ซึ่งเนื้อเยื่อที่จะถูกกำจัดทิ้งไปภายหลังการคลอด ซึ่งได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางว่าบริสุทธิ์ที่สุดและเป็นแหล่งที่มาที่ปลอดภัยของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ โดยมีศักยภาพในการแบ่งเซลล์ที่สูงสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดเป็นเซลล์อื่นๆ ได้หลากหลาย มีปฏิกริยาต่อต้านภูมิคุ้มกันที่ต่ำ และง่ายในการเก็บตัวอย่าง (Ali และคณะ, 2015; Borhani-Haghighi และคณะ, 2015; Li และคณะ., 2015; Subramanian และคณะ, 2015) นอกจากนี้ Ogawa (2002) ได้รายงานว่ เซลล์นิวโรสเฟียร์ที่ได้จากการเลี้ยง fetal spinal cord มีความสามารถที่จะใช้ในการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อและให้ผลในการรักษาอาการบาดเจ็บของไขสันหลัง และ Parr (2008) ได้รายงานว่ ไขสันหลังที่ได้จากการเหนี่ยวนำของ neural stem/progenitor cells (NSPCs) มีผลในการพัฒนาการทำงานหลังจากได้รับการบาดเจ็บของไขสันหลัง

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำเอาเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากสายรกมนุษย์ มาเหนี่ยวนำให้เกิดเซลล์นิวโรสเฟียร์ และนำเซลล์นิวโรสเฟียร์ที่ได้ไปปลูกถ่ายในหนูแรทที่ทำให้เกิดอาการของ

การบาดเจ็บไขสันหลังเพื่อทำการทดสอบยืนยันความสามารถในการรักษาและความปลอดภัยที่เกิดขึ้นทั้งนี้เพื่อ
การนำองค์ความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการรักษาในมนุษย์อีกต่อไป

2.2 ศักยภาพองค์ความรู้เทคโนโลยีและนวัตกรรมที่จะพัฒนา

2.2.1 ขนาดและแนวโน้มของตลาด/โอกาสทางการตลาด

เนื่องจากในปัจจุบันมีผู้ป่วยที่ประสบปัญหาเกี่ยวกับการได้รับบาดเจ็บของไขสันหลังที่เพิ่มขึ้น แต่เทคโนโลยีทางการรักษายังไม่สามารถเยียวยาให้ผู้ป่วยหายขาดหรือกลับมามีชีวิตที่ปกติได้ และเห็นได้ว่าในประเทศไทยไม่ว่าโรงพยาบาลของรัฐหรือเอกชน ยังไม่มีการนำเทคโนโลยีเซลล์ต้นกำเนิดมาใช้ในการรักษาสถานะการบาดเจ็บของไขสันหลังในมนุษย์ ฉะนั้นแล้วงานวิจัยนี้เป็นจุดเริ่มต้นในการใช้เทคโนโลยีเซลล์ต้นกำเนิดมาใช้ในการรักษาโดยทำการศึกษาค้นคว้าทดลองจริงในสัตว์ทดลอง และหวังต่อยอดองค์ความรู้ที่จะใช้รักษาในมนุษย์ ทั้งนี้หากตระหนักถึงค่าใช้จ่ายในการรักษาการบาดเจ็บของไขสันหลังด้วยการผ่าตัดในปัจจุบัน ซึ่งมีค่าใช้จ่ายในการรักษาที่สูงมาก แต่การรักษายังไม่สามารถฟื้นฟูให้ผู้ป่วยสามารถเคลื่อนไหวได้ตามปกติ หากงานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จตามเป้าประสงค์ องค์ความรู้นี้จะสามารถสร้างประโยชน์ได้อย่างหลากหลายทั้งในด้านการแพทย์ การศึกษาวิจัย และที่สำคัญทางด้านเศรษฐกิจ ที่จะมีโอกาสทางการตลาดที่ดีทั้งในเมืองไทยและต่างชาติ และสามารถเพิ่มการลงทุนของผู้ประกอบการจากต่างประเทศเข้าสู่ประเทศไทยได้เพิ่มขึ้นเช่นกัน

2.2.2 ลักษณะเฉพาะ/ความใหม่ของผลงานวิจัยที่แตกต่างจากที่มีในปัจจุบัน

เนื่องจากเนื้อเยื่อที่ใช้ในการเหนี่ยวนำเป็นเนื้อเยื่อที่ได้จากการบริจาคของมารดาที่คลอดลูก ฉะนั้นแล้วต้นทุนของแหล่งทรัพยากรจึงต่ำ แต่สามารถสร้างให้เกิดเป็นสิ่งที่มีความมูลค่าที่เพิ่มพูนขึ้นได้โดยองค์ความรู้จากงานวิจัยในครั้งนี้ อีกทั้งในประเทศไทยไม่มีหน่วยงานใดของรัฐ หรือบริษัทเอกชนที่ศึกษาระบบการดัดแปลงที่ครอบคลุม และหวังผลต่อการประยุกต์สู่การรักษาในมนุษย์ ดังนั้นจึงไร้ซึ่งการแข่งขันที่จะเกิดขึ้นในการตลาดและภาคธุรกิจ

2.3 ผลกระทบของโครงการที่มีต่อสังคม ในรูปแบบของการกระจายรายได้ (Income distribution) และการแก้ไขปัญหาของชุมชน

2.3.1 ความต้องการของชุมชน/ปัญหาของชุมชน

การบาดเจ็บไขสันหลังเป็นสถานะที่ไขสันหลังได้รับความกระทบกระเทือนจากแรงภายนอกมากระทำ หรือความผิดปกติของไขสันหลัง เป็นการถูกทำลายของเส้นประสาทไขสันหลัง ที่ส่งผลให้เกิดการสูญเสียหน้าที่ การทำงาน เช่น การเคลื่อนไหว การรับรู้ความรู้สึกของร่างกาย เป็นต้น โดยการบาดเจ็บไขสันหลังเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญ และเป็นภาวะวิกฤตของชีวิตซึ่งมีผลกระทบต่อสุขภาพของประชากรทำให้เกิดการสูญเสียชีวิต และทุพพลภาพ โดยทั่วโลกพบว่ามีประชากรมนุษย์ที่ประสบภาวะการบาดเจ็บไขสันหลังประมาณ 250,000 - 500,000 คน ฉะนั้นแล้วการรักษาด้วยเทคโนโลยีเซลล์ต้นกำเนิดบำบัดเป็นอีกทางออกหนึ่งในการรักษา โดยการนำเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीจากสายรกมนุษย์มาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดโดยทำการแยก

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ และนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ทำการเหนี่ยวนำให้เกิดเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ จากนั้นปลูกถ่ายเซลล์นิวโรสเฟียร์เข้าสู่หนูแรทที่ทำที่มีภาวะไขสันหลัง 5 ภูมิภาค เพื่อทดสอบความสามารถและความปลอดภัยในการรักษา

2.3.2 ผลกระทบที่เกิดจากงานวิจัยในรูปแบบของการลดผลกระทบทางลบ หรือขยายผลกระทบทางบวก

ได้วิธีการที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเซลล์นิวโรสเฟียร์จากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจสส์ของสายรกมนุษย์ และได้กระบวนการที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยในการปลูกถ่ายเซลล์นิวโรสเฟียร์ เพื่อรักษาหนูแรทที่เป็นโมเดลของการเกิดอัมพาตจากไขสันหลัง 5 ภูมิภาค และเป็นแนวทางประยุกต์ใช้ทางการแพทย์เพื่อรักษาการเกิดอัมพาตจากไขสันหลัง 5 ภูมิภาคในมนุษย์ โดยถ่ายทอดเทคโนโลยีให้กับโรงพยาบาลที่มีความพร้อม เพื่อผลิตเซลล์ไว้ใช้กับผู้ป่วยอาสาสมัครที่มีภาวะโรคดังกล่าว



บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 การเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीสายรกมนุษย์

นำสายรกมนุษย์จากผู้บริจาคสุขภาพดีที่ผ่านการลงนามยินยอมจากผู้เข้าร่วมวิจัยตามข้อกำหนดของคณะกรรมการการวิจัยในมนุษย์ของสถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (Ethics Committee for Researches Involving Human Subjects, Suranaree University of Technology) ตามเอกสารรับรองโครงการวิจัยในมนุษย์ เลขที่ EC-61-58 มา 2 ตัวอย่าง นำมาตัดให้มีความยาวชิ้นละ 5 ซม. และล้างเลือดออกด้วยสารละลาย Phosphate-buffered saline (PBS) จากนั้นกำจัดเส้นเลือดและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ออก หลังจากนั้นตัดเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीให้เป็น ขนาด 2-5 มม. แล้วนำมาเลี้ยงในน้ำยา α modification of Eagle's medium (α -MEM) ซึ่งประกอบด้วย 2 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin และ 100 μ g/ml streptomycin, 10% fetal bovine serum (FBS) โดยเริ่มเลี้ยงใน 6-well dish และเปลี่ยนน้ำยาทุก 3 วัน จากนั้นเลี้ยงเพิ่มจำนวน (passage) จนมีความหนาแน่นของ เซลล์ที่ 80% จนกระทั่งถึง passage ที่ 3 จึงนำเซลล์ไปแช่แข็งแล้วเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลว ซึ่งได้มีการเปลี่ยนวิธีการ ทำการทดลองตามที่ Tanthaisong และคณะ (2017) รายงานไว้ ซึ่งเป็นวิธีล่าสุดที่มีประสิทธิภาพในการคัดแยกเซลล์ ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्ली

3.2 การตรวจสอบคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์

มีการเพิ่มเติมวิธีการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ขึ้น โดยเพิ่มการตรวจสอบด้วยการเลี้ยงเซลล์และการ ตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์, การตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ และการเหนี่ยวนำ ให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ เพื่อเพิ่มความเชื่อมั่นในการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्ली

3.2.1 การตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ด้วยวิธี Fluorescence-Activated Cell Sorting ด้วยเครื่อง Flow cytometry

ตรวจสอบหาคุณสมบัติของการเป็นเซลล์กำเนิดมีเซนไคม์ด้วยการตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนบน ผิวเซลล์ที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิด ได้แก่ CD73, CD90 และ CD105 และจะต้องไม่มีการแสดงออกของโปรตีนบนผิว เซลล์ของ CD34 และ CD45 ซึ่งเป็น negative marker โดยเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ passage 5 ในรูปสารแขวนลอยของเซลล์ใน PBS(-) จากนั้นเติมแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนที่ต้องการตรวจสอบโดยเป็นแอนติบอดีที่ติด สารเรืองแสงอยู่แล้ว ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที ต่อมาล้าง 3 ครั้งด้วยบัฟเฟอร์ แล้วจึงไปวิเคราะห์สัดส่วน ของเซลล์ที่ติดสีย้อมต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมดด้วยเครื่อง Flow cytometry

3.2.2 การเลี้ยงเซลล์และการตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ (Colony forming unit (CFU) assay)

ทำการเปรียบเทียบการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 และได้เปลี่ยนเป็นเลี้ยงเซลล์ตั้งต้นเป็นจำนวน 200 เซลล์ ด้วยน้ำยาเลี้ยงเซลล์ในงานเลี้ยงเซลล์ขนาด 6 หลุม เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยน้ำยาจะถูกเปลี่ยนทุก ๆ 2 วัน หลังจากนั้นทำการตรึงเซลล์ด้วย 4% paraformaldehyde (PFA) เป็นเวลา 20 นาที แล้วย้อมสีด้วย 3% crystal violet ทำการนับจำนวนโคโลนีกลุ่มเซลล์ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 2 มม. เพื่อเปรียบเทียบจำนวนโคโลนีที่สร้างทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยเทียบกับจำนวนเซลล์ต้นกำเนิดตั้งต้น โดยคำนวณจากสูตร

$$\% \text{ CFU} = (\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้} \times 100) / \text{จำนวนเซลล์ที่เลี้ยงตั้งต้น}$$

3.2.3 การตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Population doubling time, PDt)

ทำการตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 ที่เลี้ยงในน้ำยาที่มี 10% FBS จำนวน 4,000 เซลล์/ตารางเซนติเมตร เลี้ยงในงานเลี้ยงเซลล์เส้นผ่าศูนย์กลาง 35 มม. นาน 72 ชั่วโมง แล้วเก็บเซลล์ทั้งหมดมา โดยส้อมมาย้อมด้วย 0.4% trypan blue เพื่อนับจำนวนเซลล์ และนำเซลล์ที่ไม่ได้ย้อมไปเลี้ยงต่อแบบเดิมจนถึง Passage ที่ 10 โดยทำทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ แล้วหา PDt ตามสูตร

$$\text{PDt} = (t \times \log 2) / (\log \text{NH} - \log \text{NI})$$

NI คือจำนวนเซลล์เริ่มต้น

NH คือจำนวนเซลล์ที่เก็บได้

t คือระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเซลล์ (ชั่วโมง)

โดยวิเคราะห์สถิติด้วยโปรแกรม GraphPad Prism 8 โดยวิธี Two-way ANOVA ค่า P-value น้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างทางสถิติ

3.2.4 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ

3.2.4.1. การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์กระดูก (Osteocyte)

นำเซลล์ที่ passage 5 มาใช้ โดยทำการเลี้ยงเซลล์ใน 6-well plate ที่เคลือบด้วย 0.1% gelatin ประมาณ 3×10^4 เซลล์/well ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบไปด้วย α -MEM ที่เติมด้วย 10% FBS, 10 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin, 100 μ l/ml streptomycin เลี้ยงและเปลี่ยนน้ำยาทุก ๆ 3 วัน จนกระทั่งเซลล์มีความหนาแน่นประมาณ 80% นำมาเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์กระดูก โดยขั้นตอนการเหนี่ยวนำจะแยกเป็นกลุ่ม control โดยใช้น้ำยาที่ไม่มีซีรัมเพื่อใช้สำหรับเติมสารที่ใช้เหนี่ยวนำ ประกอบด้วย α -MEM ที่เติมด้วย 100 units/ml penicillin, 100 μ l/ml streptomycin และกลุ่มที่เหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์กระดูก จะเติมด้วย 100 nM dexamethasone, 0.2 mM ascorbate-2-phosphate, 10 mM β -glycerophosphate ในน้ำยาเพื่อให้เกิดการ differentiation โดยทำการ

เหนี่ยวนำเซลล์เป็นระยะเวลา 21 วัน และเปลี่ยนน้ำยาเหนี่ยวนำทุก ๆ 3 วัน โดยน้ำยาที่ใช้เหนี่ยวนำจะเตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง ทำการสังเกตและบันทึกลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่จะมีลักษณะจำเพาะของเซลล์กระดูกภายใต้กล้อง inverted microscope จากนั้นตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์กระดูก โดยย้อมสี Alizarin red เพื่อตรวจสอบการสะสมของแคลเซียมภายในเซลล์ (calcification) ภายใต้กล้อง inverted microscope

3.2.4.2. การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์ไขมัน (Adipocyte)

นำเซลล์ที่ passage ที่ 5 มาใช้ และทำการเลี้ยงเซลล์ใน 6-well plate เซลล์เริ่มต้นประมาณ 3×10^4 เซลล์/well เลี้ยงจนได้ความหนาแน่น 80% แล้วจึงเปลี่ยนไปเลี้ยงโดยใช้ น้ำยาที่ทำให้เกิด differentiation เป็นเซลล์ไขมัน ที่ประกอบไปด้วย α -MEM, 10% FBS, 10 $\mu\text{g/ml}$ insulin, 100 μM indomethacin, 1 μM dexamethasone และ 0.5 mM isobutyl methylxanthine (IBMX) ภายหลังจากเหนี่ยวนำเซลล์ไปแล้ว 7 วัน ทำการเตรียมน้ำยาเหนี่ยวนำใหม่ที่ไม่มี 0.5 mM IBMX แล้วเหนี่ยวนำเซลล์จนครบ 21 วัน โดยเปลี่ยนน้ำยาเหนี่ยวนำเซลล์ทุก ๆ 3 วัน และน้ำยาที่ใช้เหนี่ยวนำจะเตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง สังเกตและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่จะมีลักษณะจำเพาะของเซลล์ไขมัน โดยใช้กล้อง inverted microscope จากนั้นตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์ไขมัน โดยย้อมสี Oil red O เพื่อตรวจสอบการสร้างไขมันภายในเซลล์ (lipid droplet) ภายใต้กล้อง inverted microscope

3.2.4.3. การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน (Chondrocyte)

นำเซลล์ที่ passage 5 มาใช้ และทำการเลี้ยงเซลล์ใน 6-well plate เซลล์เริ่มต้นประมาณ 3×10^4 เซลล์/well เลี้ยงจนได้ความหนาแน่น 80% จากนั้นทำการเหนี่ยวนำเซลล์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน ซึ่งเลี้ยงโดยใช้ น้ำยาที่ทำให้เกิด differentiation ที่ประกอบไปด้วย α -MEM, 10 $\mu\text{g/ml}$ insulin-transferrin-selenium-ethanolamine (ITS-X), 50 $\mu\text{g/ml}$ ascorbate 2-phosphate, 40 $\mu\text{g/ml}$ L-proline, 100 $\mu\text{g/ml}$ sodium pyruvate, 100 nM dexamethasone, 10 ng/ml, transforming growth factor beta 3 (TGF- β 3) และ 2% FBS ทำการเหนี่ยวนำเซลล์เป็นระยะเวลา 21 วัน และเปลี่ยนน้ำยาเหนี่ยวนำเซลล์ทุก ๆ 3 วัน โดยน้ำยาที่ใช้เหนี่ยวนำจะเตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง สังเกตและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่จะมีลักษณะจำเพาะของเซลล์กระดูก โดยใช้กล้อง inverted microscope จากนั้นตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์กระดูกอ่อน โดยย้อมสี Alcian blue เพื่อตรวจสอบการสร้าง glycosaminoglycan extracellular matrix ของเซลล์ที่ถูกเหนี่ยวนำภายใต้กล้อง inverted microscope

3.3 การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์

3.3.1 การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ผ่านการ subculture จนกระทั่งถึง passage ที่ 5 ทำการเลี้ยงต่อเพื่อเหนี่ยวนำเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ เซลล์เริ่มต้นประมาณ 1.5×10^6 เซลล์ ในน้ำยาเหนี่ยวนำให้เกิดเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ (neurospheres medium) ซึ่งประกอบด้วย DMEM/F12 (1:1), 2%B-27, 1%N2, 20 ng/mL bFGF, 20 ng/mL EGF, 2 μ g/mL Heparin sodium และ 100 units/ml penicillin, 100 μ l/ml streptomycin เป็นเวลา 14 วัน โดยทำการเติมน้ำยาอีก 1 เท่าหลังจากเหนี่ยวนำไปแล้ว 3 วัน และเปลี่ยนน้ำยาเลี้ยงครั้งหนึ่งในทุก ๆ 3 วัน

3.3.2 ตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ ด้วยวิธี Immunocytochemistry

เมื่อนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ได้มาเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ด้วยน้ำยาเหนี่ยวนำที่จำเพาะ มีการบันทึกผลการทดลองที่จะสามารถนำไปใช้ได้ในการปลูกถ่ายเช่น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและปริมาณของเซลล์นิวโรสเฟียร์ที่ได้ในระยะเวลา 3, 7, 10 และ 14 วัน หลังจากการเหนี่ยวนำ หลังจากนั้นได้นำเซลล์นิวโรสเฟียร์มาตรวจสอบด้วยการย้อมสีแอนติเจนภายในเซลล์ที่จำเพาะต่อเซลล์นิวโรสเฟียร์ ได้แก่ Nestin (1:100), SOX2 (1:100) และ Beta-tubulin 3 (Tuj1) (1:100) โดยใช้กล้อง fluorescence inverted microscope



บทที่ 4

ผลการดำเนินงานวิจัย

4.1 ผลการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्ली

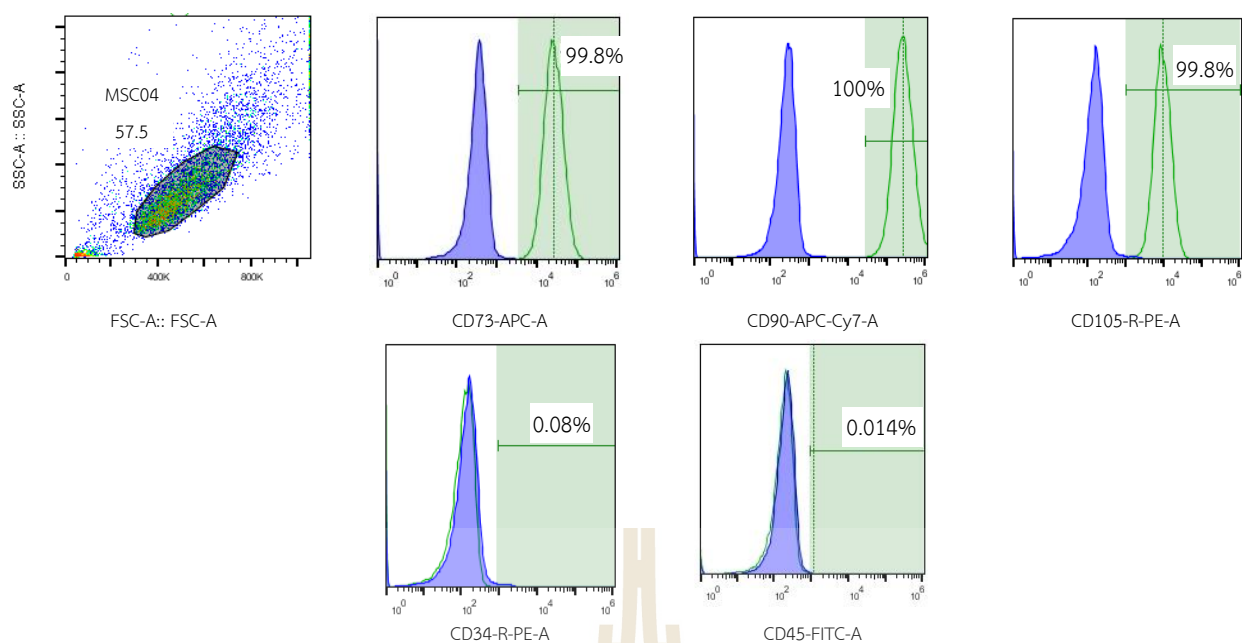
นำตัวอย่างสายรกมนุษย์จากผู้บริจาคมา 2 ตัวอย่าง มาแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीได้ 2 สายพันธุ์ คือ MSC04 และ MSC05 และได้นำมาตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीได้ผลดังต่อไปนี้

4.1.1 ผลการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ได้จากการเหนี่ยวนำเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीโดย

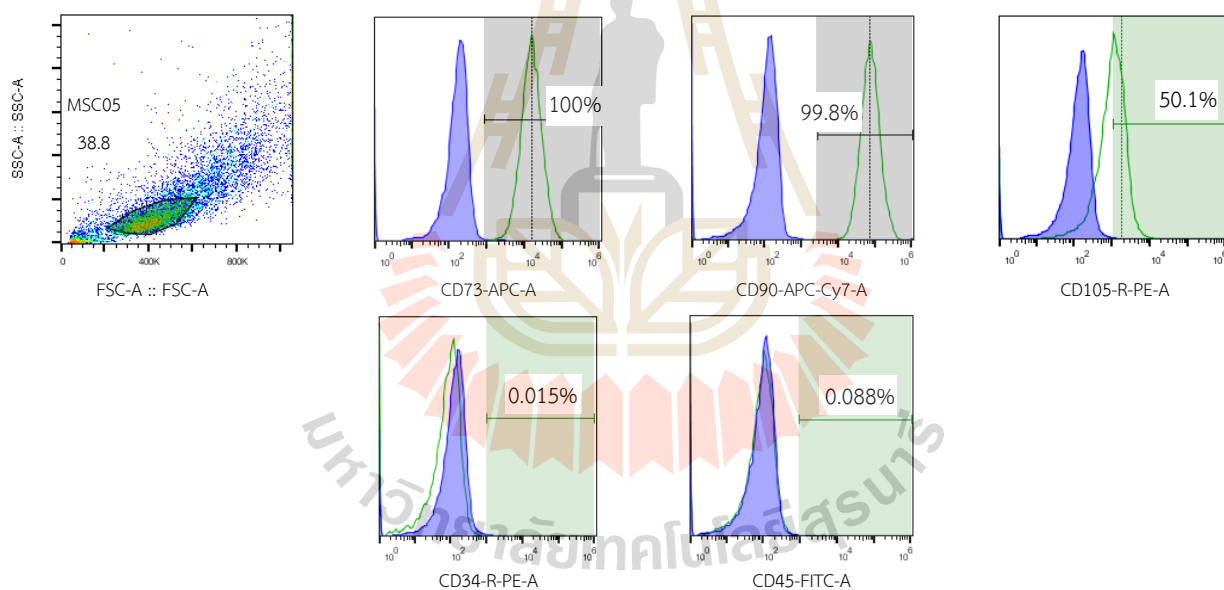
Fluorescence-Activated Cell Sorting ด้วยเครื่อง Flow cytometry

โปรตีนบนผิวเซลล์ของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์สายพันธุ์ MSC04 และ MSC05 ถูกวิเคราะห์โดยวิธี Flow cytometry ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 1 และ 2 และแสดงผลร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์แต่ละชนิดตามที่แสดงในตารางที่ 1 โดยที่ CD73, CD90 และ CD105 และจะต้องไม่มีการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์ของ CD34 และ CD45 ซึ่งเป็น negative marker จากผลการวิเคราะห์เซลล์สายพันธุ์ MSC04 พบว่ามีเซลล์ที่ปรากฏ CD73 CD90 และ CD105 มากกว่าร้อยละ 95 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD34 และ CD45 น้อยกว่าร้อยละ 2 ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ของ International Society for Cell & Gene Therapy ในขณะที่ เซลล์สายพันธุ์ MSC05 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD73 และ CD90 มากกว่าร้อยละ 95 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD34 และ CD45 น้อยกว่าร้อยละ 2 แต่มีเซลล์ที่ปรากฏ CD105 เพียงร้อยละ 50.1 ซึ่งต่ำกว่ามาตรฐาน จึงนำเซลล์สายพันธุ์ MSC04 ไปใช้ในการทดลองต่อไป

ซึ่งตามข้อเสนอโครงการวิจัยเสนอไว้ว่าจะมีการตรวจสอบโปรตีนบนผิวเซลล์ของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ชนิด CD34, CD45, CD73, CD90, CD146, CD103, CD105 และ HLA-DR แต่ทางคณะผู้วิจัยได้เลือกตรวจสอบเพียง CD73, CD90 และ CD105 สำหรับ positive marker โปรตีนบนผิวเซลล์ที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ และ CD34 และ CD45 สำหรับ negative marker ซึ่งเป็นโปรตีนบนผิวเซลล์ที่จำเพาะต่อเซลล์เม็ดเลือด ซึ่งเพียงพอที่จะตรวจทราบคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ตามเกณฑ์มาตรฐานความของ International Society for Cell & Gene Therapy



รูปที่ 1 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธี Flow cytometry ของเซลล์สายพันธุ์ MSC04



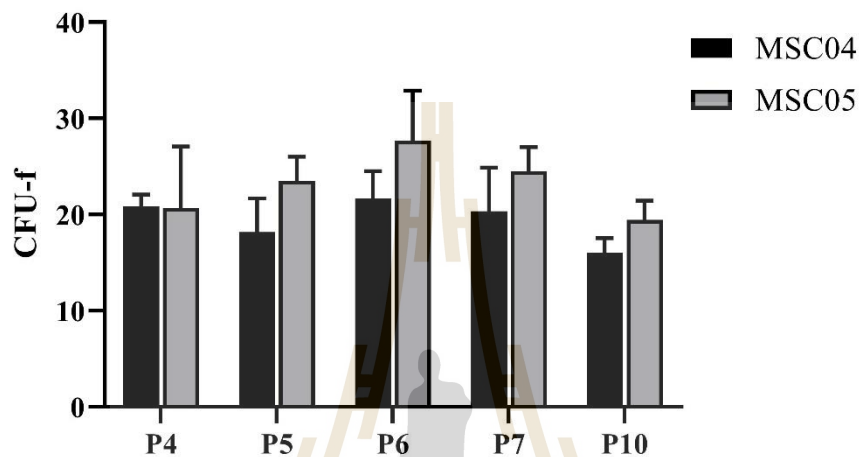
รูปที่ 2 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธี Flow cytometry ของเซลล์สายพันธุ์ MSC05

ตารางที่ 1 ร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์จากการวิเคราะห์โดยวิธี Flow cytometry

เซลล์สายพันธุ์	ร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์				
	CD73	CD90	CD105	CD34	CD45
MSC04	99.800	100.000	99.800	0.080	0.014
MSC05	100.000	99.800	51.100	0.015	0.088

4.1.2 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์

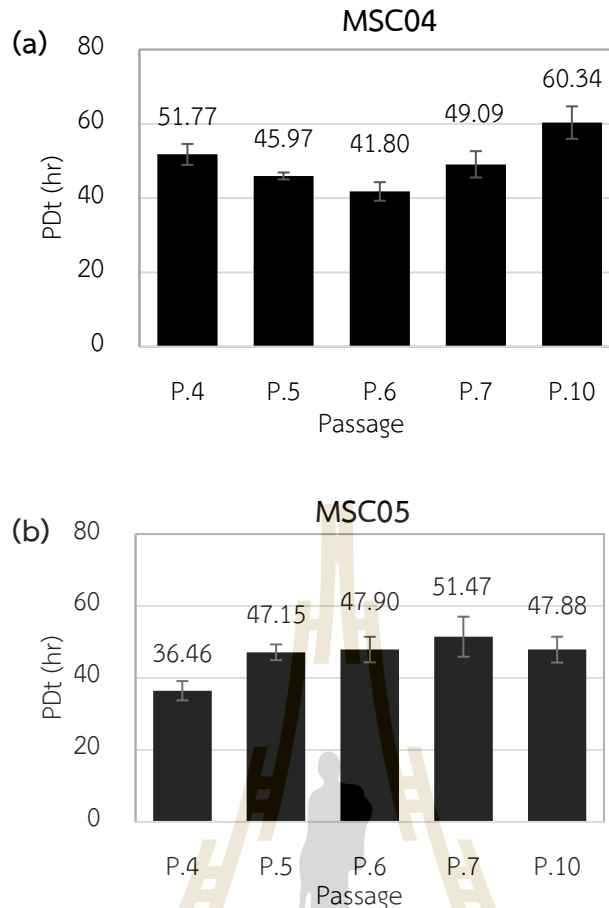
ผลการตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์พบว่า การสร้างโคโลนีของกลุ่มเซลล์ WJ04 passage 4, 5, 6, 7 และ passage 10 อยู่ในช่วง 16.17 ± 1.53 ถึง 21.67 ± 2.84 ไม่มีความแตกต่างกับการสร้างโคโลนีของกลุ่มเซลล์ WJ05 ซึ่งอยู่ในช่วง 19.33 ± 2.02 ถึง 27.67 ± 5.20 ซึ่งพบว่าทั้งสองสายพันธุ์จะมีคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ลดลงเมื่อถึง passage 10 แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อนำทั้งสองสายพันธุ์นำมาเปรียบเทียบกัน ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ (Colony forming unit (CFU)) ของเซลล์สายพันธุ์ MSC04 และ MSC05 ที่ Passage (P) 4, 5, 6, 7 และ 10

4.1.3 ผลการตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์

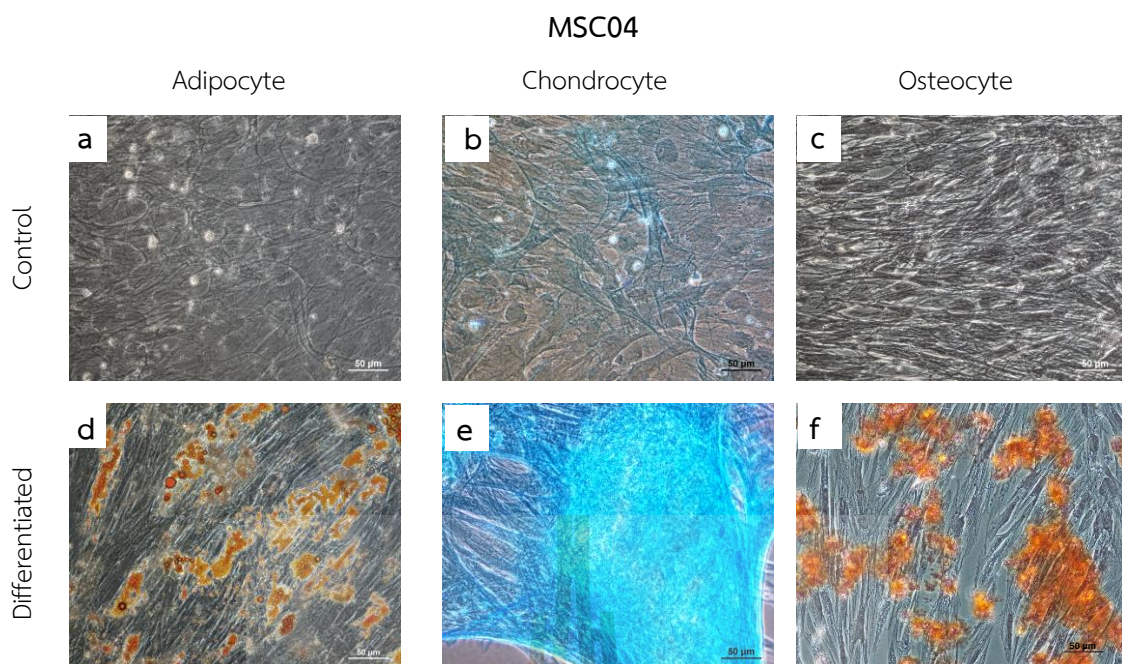
ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์สายพันธุ์ MSC04 และ MSC05 ดังแสดงในรูปที่ 4 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์สายพันธุ์ MSC04 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 มีค่าเป็น 51.77 ± 2.82 , 45.97 ± 0.93 , 41.80 ± 2.50 , 49.09 ± 3.55 และ 60.34 ± 4.36 ตามลำดับ ในขณะที่ MSC05 ใน passage ที่ 4, 5, 6 และ 7 มีค่าเป็น 36.46 ± 2.68 , 47.15 ± 2.19 , 47.90 ± 3.55 , 51.47 ± 5.57 และ 47.88 ± 3.59 ตามลำดับ ซึ่งเซลล์ทั้งสองสายพันธุ์มีอัตราเร็วในการเพิ่มจำนวนเซลล์อยู่ในช่วงที่ปกติในทุก passage ที่ทำการวิเคราะห์



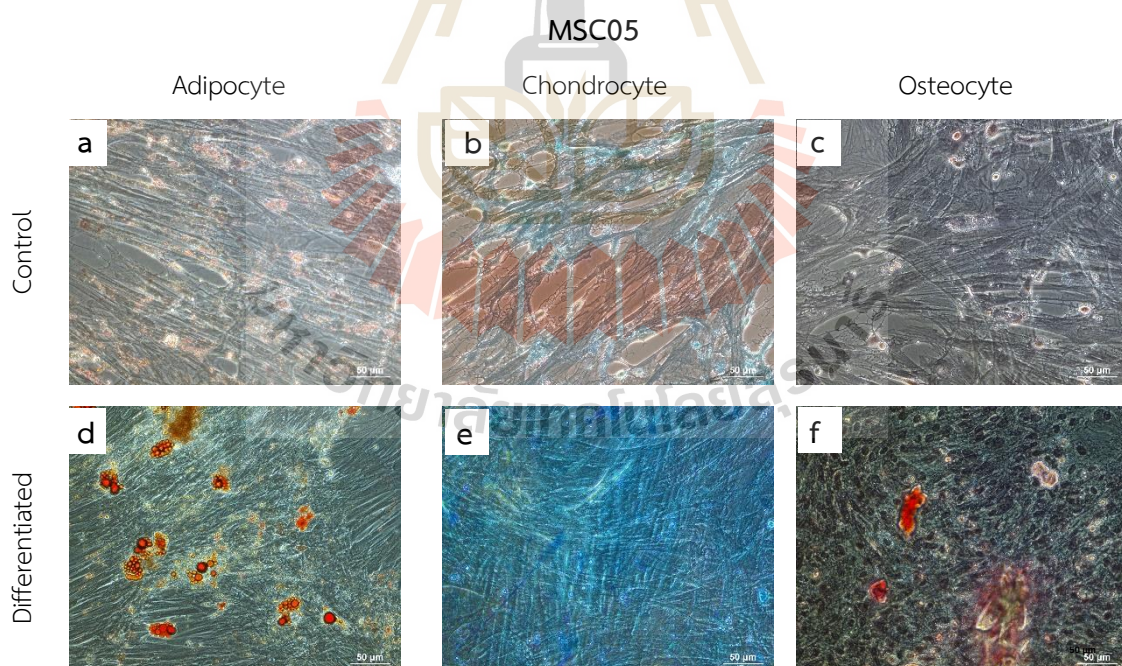
รูปที่ 4 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์สายพันธุ์ MSC04 (a) และ MSC05 (b)

4.2 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ

ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก โดยการใช้สารเหนี่ยวนำในอาหารเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน ดังแสดงในรูปที่ 5 และ 6 ทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC04 และ MSC06 สามารถเปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และเซลล์กระดูกได้ โดยที่ในการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์กระดูก เซลล์สายพันธุ์ MSC04 สามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์กระดูกได้ดีกว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC05 เนื่องจากพบเซลล์ที่ปรากฏการสะสมของแคลเซียมภายในเซลล์ ติดสีย้อม Alizarin red ปริมาณมากกว่า ส่วนการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน และเซลล์ไขมัน พบว่าทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC04 และ MSC05 สามารถเปลี่ยนไปเซลล์กระดูกอ่อนได้ดีเนื่องจากพบบริเวณที่ติดสีย้อม Alcian blue จำนวนมาก ในขณะที่การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์ไขมันได้ดีเนื่องจากพบการสร้างไขมันภายในเซลล์ (lipid droplet) ติดสีย้อม Oil red O จำนวนมากเช่นกัน



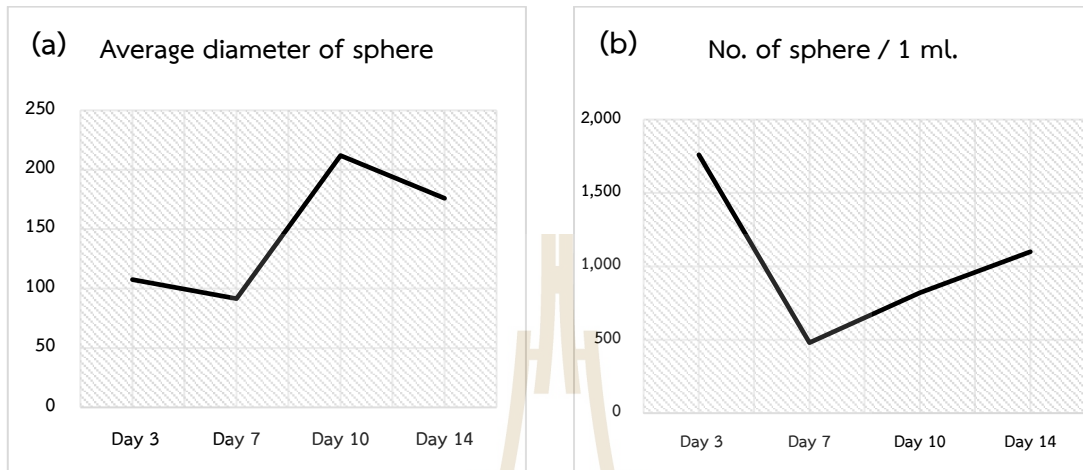
รูปที่ 5 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน (d) เซลล์กระดูกอ่อน (e) และเซลล์กระดูก (f) เปรียบเทียบกับกลุ่ม Control (a-c) ของเซลล์สายพันธุ์ MSC04 (magnification 200x, scale bar = 50 μ m.)



รูปที่ 6 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน (d) เซลล์กระดูกอ่อน (e) และเซลล์กระดูก (f) เปรียบเทียบกับกลุ่ม Control (a-c) ของเซลล์สายพันธุ์ MSC05 (magnification 200x, scale bar = 50 μ m.)

4.3 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์

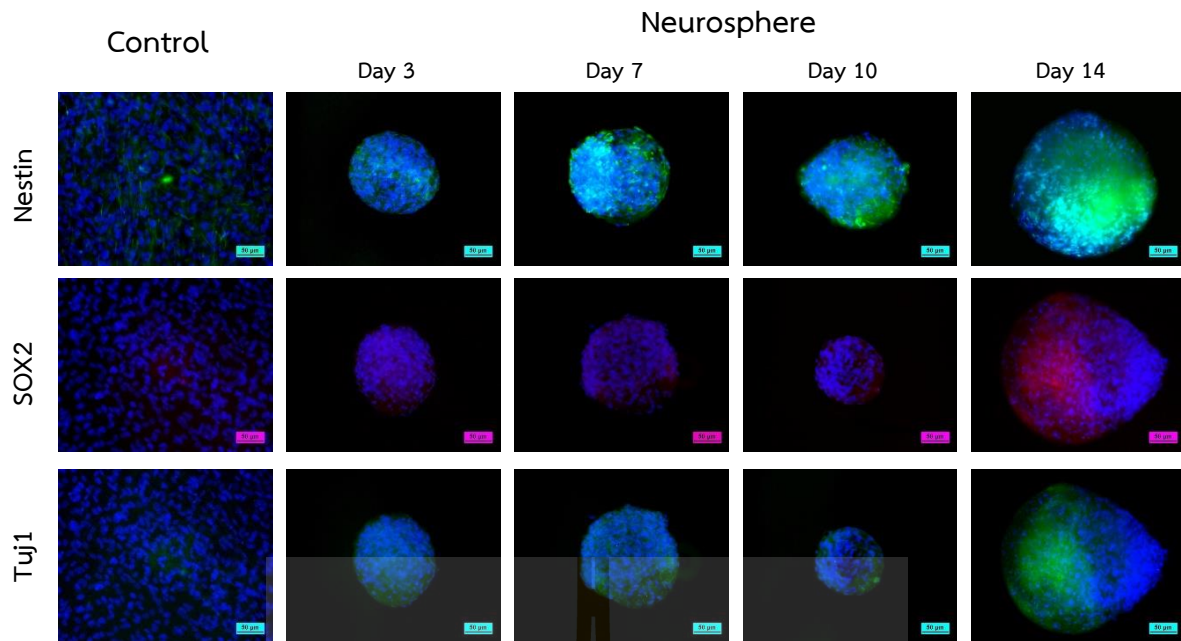
เมื่อนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ได้มาเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ด้วยน้ำยาเหนี่ยวนำที่จำเพาะ มีการบันทึกผลการทดลองที่จะสามารถนำไปใช้ต่อไปในการปลูกถ่ายเช่น ค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและปริมาณของเซลล์นิวโรสเฟียร์ที่ได้ในระยะเวลา 3, 7, 10 และ 14 วัน หลังจากการเหนี่ยวนำ แสดงในรูปที่ 7



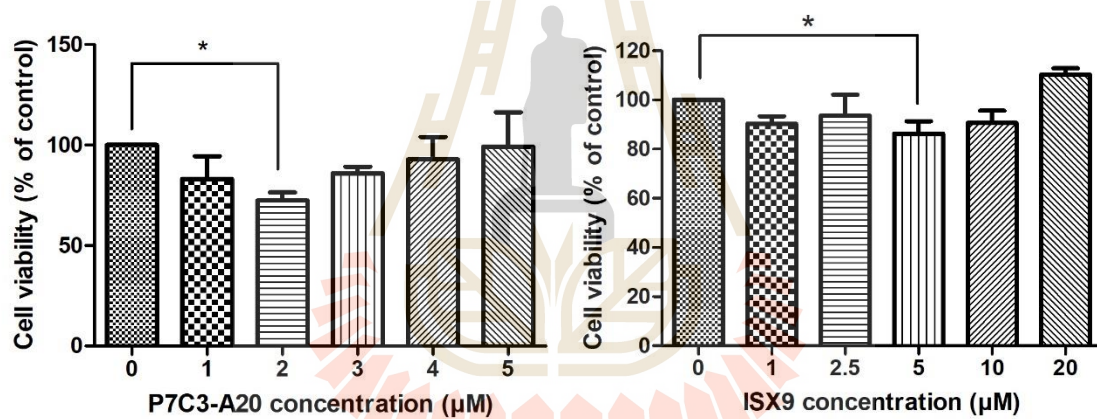
รูปที่ 7 ค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (a) และปริมาณ (b) ของเซลล์นิวโรสเฟียร์ที่ระยะเวลา 3, 7, 10 และ 14 วันหลังจากการเหนี่ยวนำ

หลังจากนั้นได้นำเซลล์นิวโรสเฟียร์มาตรวจสอบด้วยการย้อมสีแอนติเจนภายในเซลล์ที่จำเพาะต่อเซลล์นิวโรสเฟียร์ ได้แก่ Nestin, SOX2 และ Beta-tubulin 3 (Tuj1) พบว่ามีเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่เปลี่ยนแปลงไปเป็นนิวโรสเฟียร์แล้วย้อมติด SOX2 จำนวนน้อย แต่มีการย้อมติดสี Nestin และ Beta-tubulin 3 (Tuj1) จำนวนมากกว่า ดังแสดงในรูปที่ 8

และกำลังเริ่มทดสอบสารชีวโมเลกุล P7C3-A20 และ ISX9 ที่พบว่ามีประสิทธิภาพในการเพิ่มการแสดงออกของเซลล์ประสาทเพิ่มขึ้น (Yang et al., 2019) มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์เพื่อจะนำมาใช้เติมลงในน้ำยาที่ใช้เหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ เพื่อให้จำนวนเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์เพิ่มขึ้น และใช้เวลาน้อยลงต่อไป ซึ่งยังอยู่ในกระบวนการทำการทดลองอยู่ขณะนี้ ดังแสดงในรูปที่ 9



รูปที่ 8 ผลตรวจสอบด้วยการย้อมสีแอนติเจนที่จำเพาะต่อเซลล์นิวโรสเฟียร์ ได้แก่ Nestin, SOX2 และ Beta-tubulin 3 (Tuj1) (magnification 200x, scale bar = 50 μ m.)



รูปที่ 9 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารชีวโมเลกุลขนาดเล็ก P7C3-A20 และ ISX9 ต่อเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์

หมายเหตุ

เนื่องจากโครงการวิจัยนี้ได้รับงบประมาณให้ดำเนินการวิจัยปีแรกเพียงปีเดียว แต่ไม่ได้รับงบประมาณให้ดำเนินการวิจัยในปีที่ 2 และ 3 จึงได้ผลการทดลองเพียงเท่านั้น

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

ผลการตรวจสอบลักษณะและคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्ली ได้ผลจากการตรวจสอบดังต่อไปนี้คือ การตรวจสอบโปรตีนบนผิวเซลล์ของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์, การตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์, การตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ และการเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ เพื่อเพิ่มความเชื่อมั่นในการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्ली ซึ่งพบว่าสายพันธุ์ MSC04 เป็นเพียงสายพันธุ์เดียวที่ให้ผลผ่านเกณฑ์มาตรฐานความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ของ International Society for Cell & Gene Therapy ในทุกผลการตรวจสอบ จึงใช้สายพันธุ์ MSC04 ในการเหนี่ยวนำให้เป็นนิวโรสเฟียร์ต่อไป โดยใช้ น้ำยาที่ประกอบด้วย ซึ่งประกอบด้วย DMEM/F12 (1:1), 2%B-27, 1%N2, 20 ng/mL bFGF, 20 ng/mL EGF, 2 µg/mL Heparin sodium และ 100 units/ml penicillin, 100 µl/ml streptomycin เป็นเวลา 14 วัน แล้วเติมน้ำยาอีก 1 เท่าหลังจากเหนี่ยวนำไปแล้ว 3 วัน และเปลี่ยนน้ำยาเลี้ยงเพียงครั้งหนึ่งในทุก ๆ 3 วัน ในระยะเวลา 3, 7, 10 และ 14 วัน หลังการเหนี่ยวนำ ได้มีการบันทึกผลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและปริมาณของเซลล์นิวโรสเฟียร์ที่ได้จะสามารถนำไปใช้ต่อไปในการปลูกถ่าย ปริมาณของเซลล์นิวโรสเฟียร์ที่ได้มากที่สุดจะเป็นวันที่ 3 หลังจากการเหนี่ยวนำ แต่ก็ยังเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ที่มีขนาดเล็กอยู่ (107.55 µm) และมีขนาดใหญ่สุดในวันที่ 10 หลังจากการเหนี่ยวนำที่ประมาณ ซึ่งตามผลการทดลองของ Emgard และคณะ (2014) รายงานไว้ว่า เซลล์นิวโรสเฟียร์ที่ใช้ในการปลูกถ่ายให้หนูเมาส์ที่มีภาวะไขสันหลังฉีกขาดมีขนาดตั้งแต่ 150 ถึง 300 µm คณะผู้วิจัยจึงคัดเลือกเซลล์นิวโรสเฟียร์วันที่ 10 และ 14 หลังจากการทดลอง ซึ่งมีขนาด 211.97 µm และ 176.02 µm ตามลำดับ หลังจากนั้นได้นำเซลล์นิวโรสเฟียร์มาตรวจสอบด้วยการย้อมสีแอนติเจน ภายในเซลล์ที่จำเพาะต่อเซลล์นิวโรสเฟียร์ ได้แก่ Nestin, SOX2 และ Beta-tubulin 3 (Tuj1) ย้อมติด SOX2 จำนวนน้อย แต่มีการย้อมติดสี Nestin และ Beta-tubulin 3 (Tuj1) จำนวนมากกว่า สอดคล้องกับรายงานของ Kwon และคณะ (2016) ที่มีการรายงานการแสดงออกของยีน Nestin และ Beta-tubulin 3 (Tuj1) มีการแสดงออกที่ยังน้อยมากในช่วงวันที่ 1 และ 3 แต่จะเริ่มสูงขึ้นที่วันที่ 7 และสูงสุดที่วันที่ 14 หลังจากการเหนี่ยวนำ แต่การแสดงออกของ SOX2 จะแสดงผลที่น้อยมาก ต่อมาได้มีการศึกษาสารชีวโมเลกุลขนาดเล็ก P7C3-A20 และ ISX9 ที่พบว่ามีประสิทธิภาพในการเพิ่มการแสดงออกของเซลล์ประสาทเพิ่มขึ้น (Yang และคณะ, 2019) มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ก่อนที่จะนำมาใช้เติมลงในน้ำยาที่ใช้เหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ โดยพบว่า สาร P7C3-A20 ที่ความเข้มข้น 2 µM เท่านั้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ และ สาร ISX9 ที่ความเข้มข้น 5 µM เท่านั้นที่เป็นพิษต่อเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ซึ่งให้ผลว่า 3 µM P7C3-A20 และ 10 µM ISX9 ที่ Yang และคณะ (2019) รายงานสามารถนำไปใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของน้ำยาเหนี่ยวนำเซลล์นิวโรสเฟียร์ที่โดยจะไม่เป็นพิษต่อเซลล์

บรรณานุกรม

- Ali, H., Al-Yatama, M.K., Abu-Farha, M., Behbehani, K., Al Madhoun, A. 2015. Multi-lineage differentiation of human umbilical cord Wharton's Jelly Mesenchymal Stromal Cells mediates changes in the expression profile of stemness markers. *PLoS One* 10:e0122465.
- Borhani-Haghighi, M., Talaei-Khozani, T., Ayatollahi, M., Vojdani, Z. 2015. Wharton's Jelly-derived mesenchymal stem cells can differentiate into hepatocyte-like cells by HepG2 cell line extract. *Iranian Journal of Medical Sciences* 40: 143-151.
- Emgard, M., Piao, J., Aineskog, H., Liu, J., Calzarossa, C., Odeberg, J., . . . Sundstrom, E. 2014. Neuroprotective effects of human spinal cord-derived neural precursor cells after transplantation to the injured spinal cord. *Exp Neurol* 253: 138-145.
- Goodwin, H.S., Bicknese, A.R., Chien, S.N., Bogucki, B.D., Quinn, C.O., Wall, D.A. 2001. Multilineage differentiation activity by cells isolated from umbilical cord blood: expression of bone, fat, and neural markers. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 7: 581-588.
- Kakinuma, S., Tanaka, Y., Chinzei, R., Watanabe, M., Shimizu-Saito, K., Hara, Y., Teramoto, K., Aii, S., Sato, C., Takase, K., Yasumizu, T., Teraoka, H. 2003. Human umbilical cord blood as a source of transplantable hepatic progenitor cells. *Stem Cells* 21: 217-227.
- Kwon, A., Kim, Y., Kim, M., Kim, J., Choi, H., Jekarl, D. W., . . . Park, I. Y. 2016. Tissue-specific Differentiation Potency of Mesenchymal Stromal Cells from Perinatal Tissues. *Scientific Reports* 6: 23544.
- Li, D., Zhang, M., Zhang, Q., Wang, Y., Song, X., Zhang, Q. 2015. Functional recovery after acute intravenous administration of human umbilical cord mesenchymal stem cells in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury. *Intractable & Rare Diseases Research* 4: 98-104.
- Ogawa, Y., Sawamoto K., Miyata, T., Miyao, S., Watanabe, M., Nakamura, M., Bregman, B.S., Koike, M., Uchiyama, Y., Toyama, Y., Okano, H. 2002. Transplantation of In Vitro-Expanded Fetal Neural Progenitor Cells Results in Neurogenesis and Functional Recovery After Spinal Cord Contusion Injury in Adult Rats. *Neuroscience Research* 69: 925-933.

- Parr, A. M., Kulbatski, I., Zahir, T., Wang, X., Yue, C., Keating, A., Tator, C. H. 2008. Transplanted adult spinal cord– derived neural stem/progenitor cells promote early functional recovery after rat spinal cord injury. *Neuroscience* 155: 760–770.
- Pelizzo, G., Avanzini, M.A., Icaro Cornaglia, A., Osti, M., Romano, P., Avolio, L., Maccario, R., Dominici, M., De Silvestri, A., Andreatta, E., Costanzo, F., Mantelli, M., Ingo, D., Piccinno, S., Calcaterra, V. 2015. Mesenchymal stromal cells for cutaneous wound healing in a rabbit model: pre-clinical study applicable in the pediatric surgical setting. *Translational Medicine* 13: 219.
- Rao, M.S., Mattson, M.P. 2001. Stem cells and aging: expanding the possibilities. *Mechanisms of Ageing and Development* 122: 713-734.
- Silva, N.A., Sousa, N., Reis, R.L., Salgado, A.J. 2014. From basics to clinical: A comprehensive review on spinal cord injury. *Progress in Neurobiology* 114: 25-57.
- Subramanian, A., Fong, C.Y., Biswas, A., Bongso, A. 2015. Comparative characterization of cells from the various compartments of the human umbilical cord shows that the Wharton's jelly compartment provides the best source of clinically utilizable mesenchymal stem cells. *PLoS One* 10: e0127992.
- Tanthaisong, P., Imsoonthornruksa, S., Ngernsoungnern, A., Ngernsoungnern, P., Ketudat-Cairns, M., & Parnpai, R. 2017. Enhanced Chondrogenic Differentiation of Human Umbilical Cord Wharton's Jelly Derived Mesenchymal Stem Cells by GSK-3 Inhibitors. *PLOS ONE* 12: e0168059.
- Toyoshima, A., Yasuhara, T., Kameda, M., Morimoto, J., Takeuchi, H., Wang, F., Sasaki, T., Sasada, S., Shinko, A., Wakamori, T., Okazaki, M., Kondo, A., Agari, T., Borlongan, C.V., Date, I. 2015. Intra-arterial transplantation of allogeneic mesenchymal stem cells mounts neuroprotective effects in a transient ischemic stroke model in rats: analyses of therapeutic time window and its mechanisms. *PLoS One* 10: e0127302.
- Xue, X., Liu, Y., Zhang, J., Liu, T., Yang, Z., Wang, H. 2015. Bcl-xL genetic modification enhanced the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of heart infarction. *Stem Cells International* 2015: 176409.
- Yang, Y., Chen, R., Wu, X., Zhao, Y., Fan, Y., Xiao, Z., . . . Dai, J. 2019. Rapid and Efficient Conversion of Human Fibroblasts into Functional Neurons by Small Molecules. *Stem Cell Reports* 13: 862-876.

ประวัติผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย

1. ชื่อ: รองศาสตราจารย์ ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย

ยื่นผลงานเพื่อขอกำหนดตำแหน่งศาสตราจารย์เมื่อวันที่ 19 กันยายน 2560 และผ่านการประเมินจากมหาวิทยาลัยแล้ว ขณะนี้อยู่ระหว่างรอฟพระบรมราชโองการโปรดเกล้าโปรดกระหม่อมแต่งตั้ง

2. สาขาวิชา สถานที่ทำงาน: สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

111 ถ.มหาวิทยาลัย ต.สุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

โทร: 044-224234 โทรสาร: 044-224154 มือถือ: 081-4706393

อีเมล: rangsun@g.sut.ac.th

3. ประวัติการศึกษา:

3.1. ปริญญาตรี สาขาวิชา ชีววิทยา

ปีที่จบ 2523

สถาบัน มหาวิทยาลัยบูรพา

ประเทศไทย

3.2. ปริญญาโท สาขาวิชา สัตววิทยา

ปีที่จบ 2525

สถาบัน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประเทศไทย

Thesis title: Plasma progesterone and oestrone sulphate during early pregnancy in swamp buffalo.

3.3. ปริญญาเอก สาขาวิชา Animal Reproduction

ปีที่จบ 2541

สถาบัน Kyoto University

ประเทศ ญี่ปุ่น (ได้รับทุนรัฐบาลญี่ปุ่น)

Thesis title: Study on the establishment of bovine embryonic stem cells.

3.4. ฝึกอบรมสาขา Embryo transfer and in vitro fertilization in farm animals.

ด้วยทุน British Council สถาบัน Cambridge University, U.K. ระหว่าง ตุลาคม 2527 -

กุมภาพันธ์ 2528

4. ความเชี่ยวชาญที่โดดเด่น:

4.1. การโคลนนิ่งโค กระบือ สุกร แมว โดยใช้เซลล์ร่างกายเป็นเซลล์ต้นแบบ

4.2. การย้ายฝากตัวอ่อนโค กระบือ แพะ

4.3. การผลิตตัวอ่อนโค-กระบือ จากการปฏิสนธิในหลอดแก้ว

4.4. การแช่แข็งน้ำเชื้อ ไก่ และตัวอ่อน โค-กระบือ

4.5. เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน และเซลล์ต้นกำเนิดร่างกาย ในลิงและมนุษย์

5. สมาชิกสมาคมวิชาชีพ:

- 5.1. International Embryo Transfer Society (IETS) Since 1998
- 5.2. President International Buffalo Federation (2010-2013)
- 5.3. President Asian Buffalo Association (2010-2013)
- 5.4. Asian Reproductive Biotechnology Society
- 5.5. Thai Society for Biotechnology
- 5.6. Thai Society for Reproductive Medicine

6. ประสบการณ์ทำงานวิจัย หรือการบริหารงานโครงการร่วมกับ collaborators

6.1 ภาครัฐ:

6.1.1. ดร.ศิวัช สังข์ศรีทวงษ์ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ โดยร่วมมือกับ Prof. Jack Rutledge ภาควิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยวิสคอนซิน ในการวิจัยเรื่องการผลิตตัวอ่อนโคนมในหลอดแก้ว โดยได้ไปผลิตตัวอ่อนโคนมโดยใช้น้ำเชื้อแยกเพศและไม่แยกเพศ ณ มหาวิทยาลัยวิสคอนซิน และทำการแช่แข็งตัวอ่อนโดยวิธีวิตรีฟิเคชั่น จากนั้นนำตัวอ่อนแช่แข็งเข้ามาย้ายฝากให้โคตัวรับในประเทศไทย มีลูกโคเกิดมามากกว่า 200 ตัว

6.1.2. นายธรรมบุญ ทองประไพ องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย ในการวิจัยการโคลนนิ่งพ่อโคนมพันธุ์กรรมดีเยี่ยมชื่อแฟคเตอร์ได้โคเกิดมา 4 ตัว มีสุขภาพแข็งแรง และนำไปผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง

6.1.3. น.สพ.วันชัย ต้นวัฒนะ องค์การสวนสัตว์ในพระบรมราชูปถัมภ์ ในการวิจัยการโคลนนิ่งกระทิงได้ลูกกระทิงโคลนนิ่งเกิดมา 1 ตัว

6.1.4. น.สพ. วชิรวิชญ์ สมสา องค์การสวนสัตว์ในพระบรมราชูปถัมภ์ ในการวิจัยการโคลนนิ่งแมวบ้าน ได้ลูกแมวโคลนนิ่งเกิดมา 2 ตัว

6.2 ภาคเอกชน บริษัท:

6.2.1. นายสุริยา กิจสำเร็จ เอสเคพทยาแรนซ์ในการวิจัยโคลนนิ่งโคบราห์มัน ได้ลูกโคโคลนนิ่งเกิดมา 7 ตัวจากเซลล์ต้นแบบโคบราห์มันเทาเพศผู้ชื่อตุ้มตาม มีสุขภาพแข็งแรงดี และมีลูกโคโคลนนิ่งเกิดมา 4 ตัวจากเซลล์ต้นแบบโคบราห์มันแดงเพศเมียชื่อเบ็นซ์ มีสุขภาพแข็งแรงดี

6.2.2. นพ. วีรพล เขมะรังสรรค์ บจก. เมดิซ สเต็มเซลล์ ในการวิจัยการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ของมนุษย์ให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์เซลล์กระดูกจกตา เซลล์กระดูกอ่อน เซลล์นิวโรสเฟียร์เซลล์ผิวหนังและเซลล์กล้ามเนื้อ เพื่อนำไปปลูกถ่ายให้สัตว์ทดลองที่เป็นโมเดลของภาวะกระดูกตาเสื่อม ข้อเข่าเสื่อม อัมพาตจากไขสันหลังฉีกขาด บาดแผลจากอุบัติเหตุ แผลกดทับ และแผลเบาหวาน เพื่อหาข้อมูลในการประยุกต์ใช้ในการรักษามนุษย์ โดยเฉพาะในสังคมผู้สูงอายุ ซึ่งอยู่ระหว่างทำการทดลอง

6.2.3. ฟาร์มโคนมปักธงชัย บจก. ซีพีเอฟ ในการวิจัยการผลิตตัวอ่อนโคนมพันธุ์ดีเยี่ยมโดยการนำไข่ที่เจาะเก็บจากโคนมมีชีวิตด้วยอัลตราซาวด์ แล้วนำไปปฏิสนธิกับน้ำเชื้อโคนมพันธุ์ดีเยี่ยมในหลอดแก้ว แล้วนำตัวอ่อนไปย้ายฝากให้โคตัวรับ ได้ลูกโคเกิดมากกว่า 40 ตัว

6.3 มหาวิทยาลัย สถาบันอื่น ๆ:

6.3.1. ดร.ทัศนีย์ เพิ่มไทย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในการวิจัยการเพาะแยกเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อโพรงฟันมนุษย์ภายใต้สภาวะปลอดผลิตภัณฑ์จากสัตว์เพื่อประโยชน์ในการรักษา

6.3.2. รศ.นพ.กำธร พุกขานานนท์ และ น.สพ.ดร.รัฐจักร รังสิวิวัฒน์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการวิจัยการเติม bFGF (ที่ผลิตในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี) ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนมนุษย์

7. ผลงานเด่น นวัตกรรม และผลกระทบจากผลงานนั้น ๆ ที่เกิดขึ้นในระดับชุมชน ประเทศ หรือนานาชาติ (Success stories and the impacts): เขียนเล่าเรื่อง อธิบาย หรือมีภาพประกอบ

7.1. ประสบผลสำเร็จในการย้ายฝากตัวอ่อนโคนม ได้ลูกโคแฝดเพศเมียเกิดมาเมื่อวันที่ 8 กันยายน 2529 นับเป็นรายแรกของประเทศไทย (ขณะทำงาน ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ) ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของการนำการย้ายฝากตัวอ่อนไปใช้ในการเพิ่มจำนวนและปรับปรุงพันธุ์โคนมและโคเนื้อพันธุ์กรรมดีเยี่ยมจนถึงปัจจุบัน

7.2. ประสบผลสำเร็จในการย้ายฝากตัวอ่อนแพะ ได้ลูกแพะเกิดมาเมื่อปี 2532 นับเป็นรายแรกของประเทศไทย (ขณะทำงาน ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ)) ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของการนำการย้ายฝากตัวอ่อนไปใช้ในการเพิ่มจำนวนและปรับปรุงพันธุ์แพะพันธุ์กรรมดีเยี่ยมจนถึงปัจจุบัน

7.3. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งโค โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งเกิดมาเมื่อวันที่ 6 มีนาคม 2543 นับเป็นรายแรกของอาเซียน และรายที่ 6 ของโลก (ขณะทำงาน ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ) ทำให้ประเทศไทยได้รับการยอมรับในระดับนานาชาติทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพในสัตว์ระดับสูง มีการอ้างอิงผลงานวิจัยนี้จากนักวิทยาศาสตร์ทั่วโลก ได้รับการโทรศัพท์สัมภาษณ์จากสำนักข่าว CNN BBC AFP และมีการเผยแพร่ข่าวความสำเร็จในสถานีโทรทัศน์ทุกช่อง หนังสือพิมพ์ทุกฉบับ

7.4. ประสบความสำเร็จการโคลนนิ่งตัวอ่อนกระบือปลักโดยใช้เซลล์ร่างกายลูกอ่อนโคและเซลล์แกรนูโลซาเป็นเซลล์ต้นแบบ นับเป็นรายแรกของโลกที่ทำและตีพิมพ์ผลงานใน Buffalo Journal 1999, 15: 371-384. (ขณะทำงาน ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ) ทำให้ประเทศไทยได้รับการยอมรับในระดับนานาชาติทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพในสัตว์ระดับสูง โดยเฉพาะในกระบือ ทำให้ได้รับเชิญไปบรรยายในหัวข้อการโคลนนิ่งกระบือในการประชุม The 8th World Buffalo Congress ปี ค.ศ. 2007 ณ ประเทศอิตาลี และยังได้รับเชิญเป็น Standing Committee ของ International Buffalo Federation นอกจากนี้ยังได้ดำรงตำแหน่ง President ของ International Buffalo Federation และ Asian Buffalo Association ระหว่างปีค.ศ. 2010-2013

7.5. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งโคบราห์มันเทาเพศผู้ชื่อ “ตุ้มตาม” โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งจากเซลล์ต้นแบบตัวเดียวกัน 7 ตัวเกิดมา มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรงดีมาก ลูกโคทุกตัวผ่านการตรวจสอบดีเอ็นเอแล้วพบว่ามียีนดีเอ็นเอเหมือน “ตุ้มตาม” เจ้าของเซลล์ต้นแบบทุกประการ

7.6. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งโคบราห์มันแดงเพศเมียชื่อ “เป็นส์” โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งจากเซลล์ต้นแบบตัวเดียวกัน 4 ตัวเกิดมา และได้ให้นมเกล้าถวายแด่สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ โดยทรงโปรดเกล้าให้นำไปเลี้ยงในโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา

7.7. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งโคนมขาวดำเพศเมียหมายเลข “346” โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งจากเซลล์ต้นแบบตัวเดียวกัน 3 ตัวเกิดมา มีสุขภาพแข็งแรง และได้ให้นมเกล้าถวายแด่สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ โดยทรงโปรดเกล้าให้นำไปเลี้ยงในโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา

7.8. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งโคนมขาวดำเพศผู้ชื่อ “แฟคเตอร์” โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งจากเซลล์ต้นแบบตัวเดียวกัน 4 ตัวเกิดมา มีสุขภาพแข็งแรง

7.9. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งแมวพันธุ์โคราช โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ ต้นแบบ ได้ลูกแมวโคลนนิ่งเกิดมา 2 ตัว รายแรกของประเทศไทย เมื่อวันที่ 25 ธันวาคม 2549

7.10. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งโคพันธุ์ขาวลำพูนเพศผู้ชื่อ “อินทนนท์” โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งเกิดมารายแรกของประเทศไทย เมื่อวันที่ 21 มี.ค. 2550 ได้รับการตั้งชื่อว่า “ขาวมงคล” และได้ลูกโคขาวลำพูนโคลนนิ่งตัวที่ 2 เกิดมาเมื่อวันที่ 1 ก.พ. 2555 ได้รับการตั้งชื่อว่า “เศวต” และได้ให้นมเกล้าถวาย “เศวต” แด่สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ

7.11. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งแพะพันธุ์บอร์เพศผู้โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ ต้นแบบได้ลูกแพะโคลนนิ่งเกิดมารายแรกของประเทศไทย เมื่อวันที่ 27 พ.ค. 2550 1 ตัว และ วันที่ 4 ก.ค. 2550 1 ตัว

7.12. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งกระทิงเพศผู้ โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ ต้นแบบ ได้ลูกกระทิงโคลนนิ่งเกิดมารายที่ 2 ของโลก เมื่อวันที่ 4 มี.ค. 2551 จำนวน 1 ตัว ความสำเร็จครั้งนี้พิสูจน์ได้ว่าการโคลนนิ่งข้ามสปีชีส์สามารถใช้ในการอนุรักษ์สัตว์ป่าที่มีจำนวนน้อยตระกูลโค ซึ่งจะเป็นแนวทางในการทำในสัตว์ตระกูลอื่นๆต่อไป

7.13. ประสบผลสำเร็จในการพัฒนา “โคพันธุ์โคราชขาวกิว” ซึ่งเกิดจากการนำน้ำเชื้อโคขาวกิวพันธุ์แท้ (Full blood) มาผสมกับโคเนื้อในประเทศไทย โดยได้เก็บข้อมูลระหว่างปี 2548-2550 พบว่า ณ ขณะนั้นยังไม่มีหน่วยงานใดผลิตโคขาวกิวลูกผสมที่ให้เนื้อเกรดพรีเมียมที่มีเนื้อนุ่มไขมันแทรกสูงเพราะคิดว่าเลี้ยงยากมีความเสี่ยงที่โคปรับตัวไม่ได้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (มทส.) โดย รศ.ดร.รังสรรค์ พาลพ่ายผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีชีวภาพในการปรับปรุงพันธุ์โค ที่สำเร็จการศึกษาจากประเทศญี่ปุ่น และผ่านการดูงานการเลี้ยงโคขาวกิวในหลายประเทศ จึงได้ริเริ่มนำน้ำเชื้อโคขาวกิวพันธุ์แท้ให้เกษตรกรนำไปใช้ผสมเทียมให้กับโคเนื้อเพื่อรับซื้อลูกโครุ่นแรก (F1) กลับมาขุนและปรับปรุงพันธุ์ต่อไปโดยเริ่มต้นตั้งแต่ปี 2551 ได้เชิญชวนเกษตรกรเข้าหุ้น

ซื้อพ่อโควากิวพันธุ์แท้ จากประเทศออสเตรเลีย อายุ 19 เดือน 1 ตัว ราคา 700,000 บาท นำเข้ามาในเดือน กันยายน 2551 ได้รับการตั้งชื่อว่า “โกโบริ” โดยได้นำไปเลี้ยงในฟาร์มวิจัยของ”ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีตัวอ่อน และเซลล์ต้นกำเนิด”ภายใน มทส. ซึ่งเป็นคอกปกติเหมือนการเลี้ยงโคเนื้อทั่วไป ไม่ต้องติดแอร์ไม่ต้องกางมุ้ง เพื่อผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งให้ผู้ถือหุ้นร้อยกว่าคนนำไปผสมเทียมให้กับแม่โค ตั้งแต่ปี 2551 มทส. ได้เริ่มจัดอบรม วิธีการปรับปรุงพันธุ์โคเนื้อโดยใช้น้ำเชื้อโควากิวผสมเทียมและวิธีการขุนให้ได้เนื้อเกรดพรีเมียมมีไขมันแทรกสูง ให้กับเกษตรกรจังหวัดนครราชสีมา บุรีรัมย์ ระยอง นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี ระหว่างนี้ทีมงานสัตวแพทย์ได้เก็บข้อมูลสุขภาพของโกโบริ พบว่าไม่มีปัญหาใดๆด้าน ทำให้มีความมั่นใจว่าโควากิวพันธุ์แท้เลี้ยงได้ดี ไม่มีปัญหา ทำให้เกษตรกรรวมตัวกันซื้อตัวอ่อนโควากิวพันธุ์แท้แช่แข็งจากประเทศออสเตรเลีย มาให้ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีตัวอ่อนและเซลล์ต้นกำเนิด ทำการย้ายฝากให้แม่โคตัวรับมีลูกโคเกิดมาเป็นเพศเมีย 2 ตัว และเพศผู้ 7 ตัว ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งโควากิวพันธุ์แท้ไว้ใช้ผสมเทียมให้กับโคลูกผสมวากิวรุ่นต่อไป

นอกจากนี้ มทส. ยังเป็นตัวกลางในการลงนามสัญญาซื้อขายโคขุนระหว่างพ่อค้าเนื้อชาวญี่ปุ่นกับกลุ่มเกษตรกรเลี้ยงโคสุรินทร์โกเบ ในระหว่างนี้ มทส. ยังจัดอบรมอย่างต่อเนื่องให้เกษตรกรจากทุกจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และจังหวัดอื่นๆ ทั่วทุกภาครวมแล้วกว่า 4,000 คน เกษตรกรที่ผ่านการอบรมได้ตั้งชื่อโคที่ผลิตได้ตามท้องถิ่นที่ผลิตเช่น ศรีเชียงใหม่วากิว นครพนมวากิว หนองสูงวากิว ระยองวากิว สกลนครวากิว บุรีรัมย์วากิว เป็นต้น มีการรวมตัวของเกษตรกรจัดตั้งสหกรณ์และวิสาหกิจชุมชนเลี้ยงโคลูกผสมวากิวกันหลายแห่งทั่วทุกภาค ทำให้เนื้อโคโคราชวากิวได้รับการยอมรับนำไปจำหน่ายในซูเปอร์มาร์เก็ตของห้าง สยามพารากอน เครือเดอะมอลล์ทุกห้าง ห้างเซ็นทรัล ภัตตาคาร โรงแรมต่างๆ ทั้งในกรุงเทพฯ และต่างจังหวัด ในปี 2560 รัฐบาลได้จัดให้การผลิตโคโคราชวากิวเป็นยุทธศาสตร์หลักด้านการเกษตรของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยมีจังหวัดนครราชสีมา เป็นศูนย์กลางการถ่ายทอดเทคโนโลยีให้เกษตรกร มีการลงนามบันทึกข้อตกลงระหว่าง มทส. กับ 27 วิสาหกิจชุมชนเลี้ยงโควากิวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทำให้โคพันธุ์โคราชวากิวในระยะเริ่มต้น จะมีเกษตรกรภาคตะวันออกเฉียงเหนือให้การยอมรับจนกลายเป็น “อีสานวากิว” ซึ่งสอดคล้องกับนโยบาย “อีสาน 4.0” ของ รัฐบาลปัจจุบัน และกำลังขยายต่อเนื่องไปทั่วประเทศไทยกลายเป็น “ไทยวากิว” รัฐบาลโดยนายกรัฐมนตรีได้จัดให้การผลิตโควากิวเป็นหนึ่งในนโยบายหลักของรัฐบาลในการแถลงต่อรัฐสภาเมื่อวันที่ 25-26 กรกฎาคม 2562 ซึ่งจะทำให้สามารถลดการนำเข้าเนื้อโคเกรดพรีเมียมและส่งออกไปขายต่างประเทศได้ภายใน 3 ปี

8. การจัดประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ

8.1. จากผลงานวิจัยการผลิตลูกโคโคลนนิ่งตัวแรกของอาเซียนและตัวที่ 6 ของโลก ทำให้ได้รับเชิญเป็น Steering Committee ของ Asian Reproductive Biotechnology Society และได้รับเกียรติให้เป็นประธานการจัดประชุมวิชาการของสมาคม 3 ครั้ง ได้แก่

8.1.1. การประชุม The 2nd Asian Reproductive Biotechnology Conference จัดระหว่างวันที่ 2-7 พฤศจิกายน 2548 ณ โรงแรมสยามซิตี้ กรุงเทพฯ มีผู้เข้าร่วมประชุม 230 คน

8.1.2. การประชุม The 11th Asian Reproductive Biotechnology Conference จัดระหว่างวันที่ 2-8 พฤศจิกายน 2557 ณ โรงแรมสุโกศล กรุงเทพฯ มีผู้เข้าร่วมประชุม 210 คน

8.1.3. การประชุม The 14th Asian Reproductive Biotechnology Congress จัดระหว่างวันที่ 19-23 สิงหาคม 2562 ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นครราชสีมา มีผู้เข้าร่วมประชุม 160 คน

8.2. เป็นประธานการจัดประชุมวิชาการ The 10th World Buffalo Congress และ The 7th Asian Buffalo Congress ณ โรงแรมฮิลล์ ภูเก็ต อาคาเดียร์ จ.ภูเก็ต ในปีค.ศ. 2013 มีผู้เข้าร่วมประชุมกว่า 500 คน

8.3. เป็นประธานจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ The 1st SUT Stem Cell Workshop เรื่อง “Embryonic Stem Cell and Application in Biomedical Science” ระหว่างวันที่ 23-29 กรกฎาคม 2550 ณ ห้องประชุม 1 อาคารวิชาการ และห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 ชั้น 2 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี มีผู้เข้าอบรม 70 คน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เป็นสถาบันการศึกษาแห่งแรกที่เปิดการอบรมเชิงปฏิบัติการ ทางด้านเซลล์ต้นกำเนิด เพื่อเปิดโอกาสให้ผู้สนใจทำวิจัยทางด้านนี้เข้าเรียนรู้เทคนิคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยด้านนี้ และเป็นการสร้างเครือข่ายผู้วิจัยด้านนี้ในประเทศไทย

8.4. เป็นประธานจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ The 2nd SUT Stem Cell Workshop เรื่อง “Recent Advance of Embryonic and Somatic Stem Cells in Biomedical Science” ระหว่างวันที่ 28 กรกฎาคม ถึง 3 สิงหาคม 2551 ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ กรุงเทพฯ และห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 ชั้น 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมีผู้เข้าอบรม 60 คน

8.5. เป็นประธานจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ The 3rd SUT Stem Cell Workshop เรื่อง “Recent Advance of Embryonic and Somatic Stem Cells in Biomedical Science” ระหว่างวันที่ 27 มิถุนายน ถึง 3 กรกฎาคม 2552 ณ สุรสมันการ และห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 ชั้น 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมีผู้เข้าอบรม 60 คน

8.6. เป็นประธานจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ The 4th SUT Stem Cell Workshop เรื่อง “Recent Advance of Embryonic and Somatic Stem Cells in Biomedical Science” ระหว่างวันที่ 24-30 กรกฎาคม 2553 ณ สุรสมันการ และห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 ชั้น 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมีผู้เข้าอบรม 60 คน

8.7. เป็นประธานจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ The 5th SUT Stem Cell Workshop เรื่อง “The Current Status of Stem Cell Research: Pluripotency, Differentiation and Application” ระหว่างวันที่ 22-26 กรกฎาคม 2554 ณ สุรสมันการ และห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 ชั้น 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมีผู้เข้าอบรม 60 คน

9. ผลงานตีพิมพ์เชิงวิชาการ:

9.1. การเขียนตำรา-หนังสือ

- 9.1.1. **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2530. การเร่งการตกไข่เพื่อทำอิตาลีโนโค. มณีวรรณ กมลพัฒนะ (บรรณาธิการ), *การปฏิสนธิในหลอดแก้วและการย้ายฝากตัวอ่อน*. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, หน้า 41-77.
- 9.1.2. **รังสรรค์ พาลพ่ายและ สรรเพชญ์ โสภณ**. 2530. เทคนิคการย้ายฝากตัวอ่อนในโคโดยวิธีไม่ผ่าตัด. มณีวรรณ กมลพัฒนะ (บรรณาธิการ), *การปฏิสนธิในหลอดแก้วและการย้ายฝากตัวอ่อน* โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, หน้า 133-158.
- 9.1.3. **รังสรรค์ พาลพ่าย สรรเพชญ์ โสภณ มณีวรรณ กมลพัฒนะ กำธร มีบำรุง กิตติยา ศรีศักดิ์วัฒนะ ประชุม อินทรโชติ ธวัชชัย สุวรรณกำจาย ประภากร วัฒนตร พฤติ เกิดชูชื่น และ สมสวัสดิ์ ต้นตระกูล**. 2530. ผลสำเร็จการย้ายฝากตัวอ่อนโคนมลูกผสมในประเทศไทย. มณีวรรณ กมลพัฒนะ (บรรณาธิการ), *การปฏิสนธิในหลอดแก้วและการย้ายฝากตัวอ่อน* โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, หน้า 273-288.
- 9.1.4. **รังสรรค์ พาลพ่าย** 2549. เทคโนโลยีการโคลนนิ่งโค. เอกสารคำสอนวิชา 304 553 Animal Cloning Technology และ 304 554 Selected Research in Animal Cloning Technology. 389 หน้า.
- 9.1.5. **รังสรรค์ พาลพ่าย** 2553. เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน. เอกสารคำสอนวิชา 314 533 Stem Cell Technology. 238 หน้า.
- 9.1.6. **รังสรรค์ พาลพ่าย** 2560. การโคลนนิ่งโค โรงพิมพ์ หจก. เลิศศิลป์ สารสนเทศ, นครราชสีมา, 274 หน้า.
- 9.1.7. **Parnpai, R., Minami, N. and Yamada, M.** 1998. Current status of research for the establishment of bovine embryonic stem (ES) cells. In: Miyamoto, H. and Manabe, N. (eds.), *Reproductive Biology Update: Novel Tools for Assessment of Environmental Toxicity*. Nakanishi Printing, Kyoto, pp. 383-388.

9.2. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติย้อนหลัง 5 ปี

2019

Wachira Panta, Sumeth Imsoonthornruksa, Ton Yoisungnern, Sanong Suksaweang, Mariena Ketudat-Cairns and **Rangsun Parnpai***. 2019. Enhanced hepatogenic differentiation of human Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells by using three-step protocol. *Int. J. Mol. Sci.* 20: 3016; doi:10.3390/ijms20123016.

2018

- Wipassa, V. and **Parnpai, R.*** 2018. The effects of permeating cryoprotectant combination and IGF-1 supplementation for vitrification of in vitro matured bovine oocytes. *J. Applied Anima. Sci.* 11 (Supplement): 72-75.
- Liang, Y. and **Parnpai, R.*** 2018. Effect of vitrification procedures on the subsequent development of in vitro matured swamp buffalo oocytes following in vitro fertilization. *Anim. Sci. J.* DOI: 10.1111/asj.13044
- Licia Colli, Marco Milanese, Elia Vajana, Daniela Iamartino, Lorenzo Bomba, Francesco Puglisi, Marcello Del Corvo, Ezequiel L. Nicolazzi, Sahar S. E. Ahmed, Jesus R. V. Herrera, Libertado Cruz, Shujun Zhang, Aixin Liang, Guohua Hua, Liguang Yang, Xingjie Hao, Fuyuan Zuo, SongJia Lai, Shuilian Wang, Ruyu Liu, Yundeng Gong, Mahdi Mokhber, Yongjiang Mao, Feng Guan, Augustin Vlaic, Bogdan Vlaic, Luigi Ramunno, Gianfranco Cosenza, Ali Ahmad, Ihsan Soysal, Emel Ö. Ünal, Mariena Ketudat-Cairns, José F. Garcia, Yuri T. Utsunomiya, Pietro S. Baruselli, Maria E. J. Amaral, **Rangsun Parnpai**, Marcela G. Drummond, Peter Galbusera, James Burton, Eileen Hoal 31, Yulnawati Yusnizar, Cece Sumantr, Bianca Moioli, Alessio Valentini, Alessandra Stella, John L. Williams and Paolo Ajmone-Marsan. 2018. New Insights on Water Buffalo Genomic Diversity and Post-Domestication Migration Routes From Medium Density SNP Chip Data. *Frontiers Genetics*. 9: 53: 1-17.
- Juanpanich, T., Suttirojpatana, T., Takayama, M., Liang, Y., Dochi, O., **Parnpai, R.*** and Imai, K.* 2018. Effects of gel-embedded embryos on developmental competence of separated bovine blastomeres. *Livestock Sci.* 207: 25-29.

2017

- Ye, D., Heraud, P., **Parnpai, R.*** and Li, T. 2017. Reversal of experimental liver damage after transplantation of stem-derived cells detected by FTIR spectroscopy. *Stem Cell Intl.* 4585169
- Suttirojpatana, T., Somfai, T.*, Matoba, S., Nagai, T., **Parnpai, R.** and Geshi, M. 2017. Effect of storage tube material and resveratrol during liquid storage of matured bovine oocytes on subsequent development. *Acta Veterinaria Hungarica* 65: 546–555.

- Paul, A.K., Liang, Y., Srirattana, K., Nagai, T. and **Parnpai, R.*** 2017. Vitrification of bovine matured oocytes and blastocysts in a paper container. *Anim. Sci. J.* doi: 10.1111/asj.12892.
- Juanpanich, T., Suttiropattana, T., Takayama, M., Liang, Y., Dochi, O., **Parnpai, R.*** and Imai, K.* 2017. Survival and developmental competence of bovine embryos at different developmental stages and separated blastomeres after vitrification in different solutions. *Anim. Sci. J.* doi:10.1111/asj.12890
- Pitchayapipatkul, J., Somfai, T., Matoba, S., **Parnpai, R.**, Nagai, T., Geshi, M. and Vongpralub, T.* 2017. Microtubule stabilisers docetaxel and paclitaxel reduce spindle damage and maintain the developmental competence of in vitro-mature bovine oocytes during vitrification. *Reprod Fertil Dev.* doi: 10.1071/RD16193.
- Tanthaisong P, Imsoonthornruksa S, Ngernsoungnern A, Ngernsoungnern P, Ketudat-Cairns M, **Parnpai R.*** 2017. Enhanced Chondrogenic Differentiation of Human Umbilical Cord Wharton's Jelly Derived Mesenchymal Stem Cells by GSK-3 Inhibitors. *PLoS One.* 12: e0168059.
- Suttiropattana, T., Somfai, T.*, Matoba, S., Nagai, T., **Parnpai, R.** and Geshi, M. 2017. Effect of medium additives during liquid storage on developmental competence of in vitro matured bovine oocytes. *Anim. Sci. J.* 88: 231–240.
- 2016**
- Kunkanjanawan, T., Carter, R.L., Prucha, M., Yang, J., **Parnpai, R.** and Chan, A.W.S.* 2016. miR196a ameliorates cytotoxicity and cellular phenotype in transgenic Huntington's disease monkey neural cells. *PloS One* 11: e0162788.
- Suttiropattana, T., Somfai, T.*, Matoba, S., Nagai, T., **Parnpai, R.*** and Geshi, M. 2016. Pretreatment of bovine sperm with dithiobutylamine (DTBA) significantly improves embryo development after ICSI. *J. Reprod. Dev.* 62: 577-585.
- Parnpai, R.***, Liang, Y., Ketudat-Cairns, M., Somfai, T. and Nagai, T. 2016. Vitrification of buffalo oocytes and embryos. *Theriogenology.* 86: 214-220.
- Ye, D., Li, T., Heraud, P. and Parnpai, R.* 2016. Effect of chromatin-remodeling agents in hepatic differentiation of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells in vitro and in vivo. *Stem Cell Intl.* 3038764.

Suttirojattana, T., Somfai, T.*, Matoba, S., Nagai, T., **Parnpai, R.*** and Geshi, M. 2016. The effect of temperature during liquid storage of in vitro-matured bovine oocytes on subsequent embryo development. *Theriogenology*. 85: 509-518.

2015

Imsoonthornruksa, S., Pruksananonda, K., **Parnpai, R.**, Rungsiwiwut, R. and Ketudat-Cairns, M.* 2015. Expression and purification of recombinant human basic fibroblast growth factor fusion proteins and their uses in human stem cell culture. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 25: 372-380.

Chasombat, J., Nagai, T., **Parnpai, R.** and Vongpralub, T.* 2015. Pretreatment of in vitro matured bovine oocytes with docetaxel before vitrification: Effects on cytoskeleton integrity and developmental ability after warming. *Cryobiology*. 71: 216-223.

Khamlor, T., Pongpiachan, P., **Parnpai, R.**, Punyawai, K., Sangsritavong. and Chokesajjawatee, N.* 2015. Bovine embryo sex determination by multiplex loop-mediated isothermal amplification. *Theriogenology*. 83: 891-896.

Punyawai, K., Anakkul, N., Srirattana, K., Aikawa, Y., Sangsritavong, S., Nagai, T., Imai K. and **Parnpai R.*** 2015. Comparison of Cryotop and micro volume air cooling methods for cryopreservation of bovine matured oocytes and blastocysts. *J. Reprod. Dev.* 61 : 431-437.

Yoisungnern, T., Choi, Y.J., Woong, H.J., Kang, M.H., Das, J., Gurunathan, S., Kwon D.N., Cho, S.G., Park, C., Kyung Chang, W., Chang, B.S., **Parnpai R.** and Kim, J.H.* 2015. Internalization of silver nanoparticles into mouse spermatozoa results in poor fertilization and compromised embryo development. *Sci. Rep.* doi: 10.1038/srep11170.

Yoisungnern, T., Das, J., Choi, Y.J., **Parnpai, R.** and Kim, J.H.* 2015. Effect of hexavalent chromium-treated sperm on in vitro fertilization and embryo development. *Toxicol. Ind. Health*. pii: 0748233715579805.

2014

Carter, R.L., Chen, Y., Kunkanjanawan, T., Xu, Y., Moran, S.P., Putkhao, K., Yang, J., Huang, A.H.C., **Parnpai, R.** and Chan, A.W.S.* 2014. Reversal of cellular phenotypes in neural cells derived from Huntington's disease monkey-induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports* 3:1-9.

Chasombat, J., Nagai, T., **Parnpai, R.** and Vongpralub, T.* 2014. Ovarian follicular dynamics and hormones throughout the estrous cycle in Thai native heifer. *Anim. Sci. J.* 85: 15-24.

- Parnpai, R.***, Liang, Y.Y., Paul, A.K., Ngernsoungnern, A., Ngernsoungnern, P. and Ketudat-Cairns, M. 2014. Cryopreservation of buffalo oocytes. *Thai J. Vet. Med.* 44 (Supplement 1): 119-123.
- Paul, A.K., Liang, Y.Y., Nagai, T. and **Parnpai, R.*** 2014. Blastocysts hatchability following oocytes and blastocyst vitrification. *Thai J. Vet. Med.* 44 (Supplement 1): 237-240.
- Paul, A.K., Liang, Y.Y., Nagai, T. and **Parnpai, R.*** 2014. In vitro development potentiality of expanded bovine blastocysts subsequent Cryotop vitrification. *Thai J. Vet. Med.* 44: 513-521.
- Punyawai, K., Sangsritavong, S., Liang, Y.Y., Sripunya, N. and **Parnpai, R.*** 2014. Effect of thawing solutions on survival of bovine blastocyst using in-straw vitrification method. *Thai J. Vet. Med.* 44 (Supplement 1): 241-243.
- Putkhao, K.*, Chan, A.W.S.*, Yuksel, A. and **Parnpai, R.*** 2013. Cryopreservation of transgenic Huntington's disease rhesus macaque sperm: A case report. *Cloning and Transgenesis* 2:1000116.
- Sripunya, N., Liang, Y., Panyawai, K., Srirattana, K., Ngernsoungnern, A., Ngernsoungnern, P., Ketudat-Cairns, M. and **Parnpai, R.*** 2014. Cytochalasin B efficiency in the cryopreservation of immature bovine oocytes by Cryotop and solid surface vitrification methods. *Cryobiology* 69: 496-499.
- Srirattana, K., Ketudat-Cairns, M., Nagai, T., Kaneda, M.* and **Parnpai, R.*** 2014. Effects of Trichostatin A on in vitro development and DNA methylation level of the satellite I region of swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) cloned embryos. *J. Reprod. Dev.* 60: 336-341.
- 2013**
- Chasombat, J., Nagai, T., **Parnpai, R.** and Vongpralub, T.* 2013. Ovarian follicular dynamics, ovarian follicular growth, oocyte yield, in vitro embryo production and repeated oocyte pick up in Thai native heifers undergoing superstimulation. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 26: 488-500.
- Kaewmungkun, K., Srirattana, K., Panyawai, K., Sripunya, N., Liang, Y., Sangsritavong, S. and **Parnpai, R.*** 2013. Influence of growth factors on survival and development of swamp buffalo early antral follicle cultured in vitro. *Buffalo Bulletin* 32: (Special Issue 2): 617-621.

Liang, Y.Y., Somfai, T., Nagai, T. and **Parnpai, R.*** 2013. Vitrification of buffalo oocytes: Current status and perspectives. *Buffalo Bulletin* 32 (Special Issue 1): 196-203.

Phongnimitr, T., Liang, Y., Srirattana, K., Panyawai, K., Sripunya, N., Treetampinich, C. and **Parnpai, R.*** 2013. Effects of L-carnitine supplemented in maturation medium on the maturation rate of swamp buffalo oocytes. *Buffalo Bulletin* 32: (Special Issue 2): 613-616.

Phongnimitr, T., Liang, Y.Y., Srirattana, K., Panyawai, K., Sripunya, N., Treetampinich, C.* and **Parnpai, R.*** 2013. Effect of L-carnitine on maturation, cryo-tolerance and embryo developmental competence of bovine oocytes. *Anim. Sci. J.* 84: 719-725.

2012

Chasombat, J., Sakhong, D., Nagai, T., **Parnpai, R.** and Vongpralub, T*. 2012 Superstimulation of follicular growth in Thai native heifers by a single administration of follicle stimulating hormone dissolved in polyvinylpyrrolidone. *J. Reprod. Dev.*
<http://dx.doi.org/10.1262/jrd.2012-119>

Imsoonthornruksa, S., Srirattana, K., Phewsoi, W., Tunwattana, W., **Parnpai, R*.** and KetudatCairns, M*. 2012. Segregation of donor cell mitochondrial DNA in gaur-bovine interspecies somatic cell nuclear transfer embryos, fetuses and an offspring. *Mitochondrion* 12: 506-513.

Imsoonthornruksa, S., Sangmalee, A., Srirattana, K., **Parnpai, R.***, Ketudat-Cairns, M*. 2012. Development of intergeneric and intrageneric somatic cell nuclear transfer (SCNT) cat embryos and the determination of telomere length in cloned offspring. *Cell. Reprogram.* 14: 79-87.

Liang, Y.Y., Srirattana, K., Phermthai, T., Somfai, T., Nagai, T. and **Parnpai, R*.** 2012. Effects of vitrification cryoprotectant treatment and cooling method on the viability and development of buffalo oocytes after intracytoplasmic sperm injection. *Cryobiology* 65: 151-156.

Liang, Y., Rakwongrit, D., Phermthai, T., Somfai, T., Nagai, T., and **Parnpai, R.*** 2012. Cryopreservation of immature buffalo oocytes: Effects of cytochalasin B pretreatment on the efficiency of cryotop and solid surface vitrification methods. *Anim. Sci. J.*
 doi:10.1111/j.1740-0929.2012.01013.

- Putkhao, K., Kocerha, J., Cho, I.K., Yang, J.J., **Parnpai, R.** and Chan, A.W.S*. 2012. Pathogenic cellular phenotypes are germline transmissible in a transgenic primate model of Huntington's Disease. *Stem Cell Dev.* 22: 1198-1205.
- Srirattana, K., Sripunya, N., Sangmalee, A., Imsoonthornruksa, S., Liang, Y.Y., Ketudat-Cairns M.K. and **Parnpai, R***. 2012. Developmental potential of vitrified goat oocytes following somatic cell nuclear transfer and parthenogenetic activation. *Small Rum. Res.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.10.011>
- Srirattana, K., Imsoonthornruksa, S., Laowtammathron, C., Sangmalee, A., Tunwattana, W., Thongprapai, T., Chaimongkol, C., Ketudat-Cairns, M*. and **Parnpai, R***. 2012. Full-term development of gaur-bovine interspecies somatic cell nuclear transfer embryos: effect of trichostatin a treatment. *Cell Reprogram.* 14: 248-257.
- Takeda, K*, Srirattana, K., Matsukawa, K., Akagi, S., Kaneda, M., Tasai, M., Nirasawa, K., Pinkert, C.A., **Parnpai, R.** and Nagai, T. 2012. Influence of intergeneric/interspecies mitochondrial injection; parthenogenetic development of bovine oocytes after injection of mitochondria derived from somatic cells. *J. Reprod. Dev.* 58: 323-329.
- Ye, D.N., Tanthanuch, W., Thumanu, K., Sangmalee, A., **Parnpai, R***. and Heraud, P*. 2012. Discrimination of functional hepatocytes derived from mesenchymal stem cells using FTIR microspectroscopy. *Analyst* 135: 4774-4784. 2011
- Imsoonthornruksa, S., Lorthongpanich, C., Sangmalee, A., Srirattana, K., Laowtammathron, C., Tunwattana, W., Somsa, W., Ketudat-Cairns, M., Nagai, T. and **Parnpai, R***. 2011. The effects of manipulation medium and recipient cytoplasm on in vitro development of intraspecies and intergeneric felid embryos. *J. Reprod. Dev.* 57: 385-392.
- Imsoonthornruksa, S., Noisa, P., **Parnpai, R.** and Ketudat-Cairns, M*. 2011. A simple method for production and purification of soluble and biological activity recombinant human leukemia inhibitory factor (hLIF) fusion protein in Escherichia coli. *J. Biotechnol.* 151: 295-302.
- Kunkanjanawan, T., Noisa, P*. and **Parnpai, R***. 2011. Modeling neurological disorders by human induced pluripotent stem cells. *J. Biomed. Biotechnol.* 350131.
- Liang, Y., Phermthai, T., Nagai, T., Somfai, T. and **Parnpai, R***. 2011. In vitro development of vitrified buffalo oocytes following parthenogenetic activation and intracytoplasmic sperm injection. *Theriogenology* 75: 1652-1660.

- Liang Y.Y., Ye, D.N., Laowtammathron, C., Phermthai, T., Nagai, T., and **Parnpai, R***. 2011. Effects of chemical activation treatment on development of swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) oocytes matured in vitro and fertilized by intracytoplasmic sperm injection. *Reprod. Domestic Anim.* 46: e67-e73.
- Lorthongpanich, C*, Chuti Laowtammathron, C. and **Parnpai, R***. 2011. From microsurgery to single blastomere culture: conventional and novel methods for ES cell establishment. *Thai J. Vet. Med.* 41: 11-22.
- Noisa, P*. and **Parnpai, R.** 2011. Technical challenges in the derivation of human pluripotent cells. *Stem Cells Int.* 907961. 3
- Parnpai, R.**, Srirattana, K., Imsoonthornruksa, S. and Ketudat-Cairns, M. 2011. Somatic cell cloning for livestock and endangered species. *Thai J. Vet. Med. Suppl.* 41: 77-85.
- Rattanasuk, S., **Parnpai, R.** and Ketudat-Cairns, M*. 2011. Multiplex polymerase chain reaction used for bovine embryo sex determination. *J. Reprod. Dev.* 57: 539-542.
- Srirattana, K., Matsukawa, K., Akagi, S., Tasai, M., Tagami, T., Nirasawa, K., Nagai, T., Kanai, Y., **Parnpai, R.** and Takeda, K*. 2011. Constant transmission of mitochondrial DNA in 20 intergeneric cloned embryos reconstructed from swamp buffalo fibroblasts and bovine ooplasm. *Anim. Sci. J.* 82: 236-243.
- Thumanu, K., Tanthanuch, W., Ye, D., Sangmalee, A., Lorthongpanich, C., **Parnpai, R***. and Heraud, P*. 2011. Spectroscopic signature of mouse embryonic stem cells derived hepatocytes using Synchrotron FTIR microspectroscopy. *J. Biomed. Optics* 16: 057005-1.
- 2010**
- Tanthanuch, W., Thumanu, K., Lorthongpanich, C., **Parnpai, R***. and Heraud, P*. 2010. Neural differentiation of mouse embryonic stem cells studied by FT-IR spectroscopy. *J. Mol. Struct.* 967: 189-195.
- Laowtammathron, C., Cheng, E.C., Cheng, P.H, Snyder, B.R., Yang, S.H., Johnson, Z., Lorthongpanich, C., Kuo, H.C., **Parnpai, R.** and Chan, A.W.S*. 2010. Monkey Hybrid Stem Cells Develop Cellular Features of Huntington's Disease. *BMC Cell Biology.* 11: 12.
- Imsoonthornruksa, S., Lorthongpanich, C., Sangmalee, A., Srirattana, K., Laowtammathron, C., Tunwattana, W., Somsa, W., Ketudat-Cairns, M., and **Parnpai, R***. 2010. Abnormalities in the transcription of reprogramming genes related to global epigenetic events of cloned endangered felid embryos. *Reprod. Fertil. Dev.* 22: 613-624.

- Sripunya, N., Somfai, T*, Inaba, Y., Nagai, T., Imai, K. and **Parnpai, R.** 2010. A comparison of Cryotop and Solid Surface Vitrification methods for the cryopreservation of in vitro matured bovine oocytes. *J. Reprod. Dev.* 56: 176-181.
- Srirattana, K., Lorthongpanich, C., Laowtammathron, C., Imsoonthornruksa S., Ketudat-Cairns, M., Phermthai, T., Nagai, T. and **Parnpai, R***. 2010. Effect of donor cell types on developmental potential of cattle (*Bos taurus*) and swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) cloned embryos. *J. Reprod. Dev.* 56: 49-54.

10. ทรรศนทางปัญญา:

10.1. การจดสิทธิบัตร

10.1.1. รังสรรค์ พาลพ่าย วิศิษฐ์พร สุขสมบัติ อาวุธ อินทรขึ้น อุดมวิทย์ มณีวรรณ คมสัน ภาษยเดช แสงเพ็ชร งอนชัยภูมิ ป้องภัยรี มีสมบัติ สมิง เต็มพรมราช “อุปกรณ์ควบคุมการเคลื่อนที่ก้านสุบของไมโครโซริงท์” ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 11 มิถุนายน 2547 ได้รับสิทธิบัตรเมื่อเดือน เมษายน 2550

10.1.2. รังสรรค์ พาลพ่าย วิศิษฐ์พร สุขสมบัติ อาวุธ อินทรขึ้น อุดมวิทย์ มณีวรรณ คมสัน ภาษยเดช แสงเพ็ชร งอนชัยภูมิ ป้องภัยรี มีสมบัติ สมิง เต็มพรมราช ชูติ เหล่าธรรมธร จันท์เจ้า ล้อทองพานิชย์ วิชัย ศรีสุรักษ์ “เครื่องเชื่อมเซลล์ด้วยไฟฟ้ากระแสตรง” ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 11 มิถุนายน 2547

10.1.3. สุรัชย์ รัตนสุข รังสรรค์ พาลพ่าย มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ “ผลิตภัณฑ์โมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิเพศผู้ของโค และกระบวนการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิเพศผู้ของโคดังกล่าว” ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 27กรกฎาคม 2555

10.1.4. สุรัชย์ รัตนสุข รังสรรค์ พาลพ่าย มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ “กระบวนการแยกเพศอสุจิโคด้วยโมโนโคลนัลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่ออสุจิเพศผู้ของโค และการใช้อสุจิที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวในการปฏิสนธิในหลอดทดลอง” ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 27 กรกฎาคม 2555

10.1.5. รังสรรค์ พาลพ่าย ศิวัช สังศรีทวงษ์ กาญจนา ปัญญาโว “ภาชนะบรรจุตัวอ่อนแช่แข็งด้วยวิธีลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็วที่มีการเจือจางสารแช่แข็งแบบขั้นตอนเดียวและการใช้ภาชนะบรรจุดังกล่าว” เลขทะเบียน 9367 อนุมัติวันที่ 28 พ.ย. 2557

11. รางวัลที่ได้รับ

11.1. จากผลงานวิจัยการย้ายฝากตัวอ่อนโคนมจนประสบผลสำเร็จ ได้ถูกแผดโคนมเกิดมาครั้งแรกของประเทศไทยเมื่อวันที่ 8 กันยายน 2529 ท าให้งานวิจัยนี้ถูกยกย่องให้เป็น 1 ใน 10 ขาวเด่นของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

11.2. รางวัลนักวิจัยดีเด่น จากสมาคมเทคโนโลยีชีวภาพแห่งประเทศไทย ได้รับเชิญเป็นผู้ปาฐกถา आयो नीมะ मोटे रे ई “Somatic cell cloning in bovine using ear fibroblast as donor cells” ในการประชุมประจำปีของสมาคมปี พ.ศ. 2547

- 11.3. รางวัลบุคลากรสายวิชาการที่มีผลงานดีเด่นด้านการวิจัย ประจำปี 2548 จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
- 11.4. รางวัลแทนคุณแผ่นดิน สาขาวิทยาศาสตร์ จากผลสำเร็จการทำโคลนนิ่งสัตว์ชนิดต่างๆ ประจำปี 2550 จากเครือข่ายเนชั่น
- 11.5. รางวัลผลงานวิจัยดี (อันดับ 1 สาขาสัตว์) ในการเสนอผลงานวิจัยเรื่อง “การอนุรักษ์โคพันธุ์ขาวลำพูนโดยการโคลนนิ่ง” ในการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 พ.ศ. 2551
- 11.6. ศิษย์เก่าดีเด่น คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ. 2555
- 11.7. รางวัลบุคลากรสายวิชาการที่มีผลงานดีเด่นด้านการบริการวิชาการ ประจำปี 2558 จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
- 11.8. ศิษย์เก่าดีเด่น มหาวิทยาลัยบูรพา พ.ศ. 2560



รองศาสตราจารย์ มารินา เกตุทัต-คาร์นส์

1. ชื่อ: รองศาสตราจารย์ มารินา เกตุทัต-คาร์นส์

2. สาขาวิชา สถานที่ทำงาน: สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เลขที่ 111 ถ. มหาวิทยาลัย ต. สุรนารี

อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ (044) 224355 โทรสาร (044) 224150

e-mail: ketudat@sut.ac.th

วุฒิการศึกษา 1988 B.Sc. Biology (Plant Science and Technology) Minor in Chemistry
Chiang Mai University, Thailand G.P.A. 3.24

1995 Ph.D. Biology (Plant Molecular Genetic) University of California San
Diego, USA G.P.A. 4.00

3. ความเชี่ยวชาญที่โดดเด่น:

- Recombinant Protein Production, Protein Research
- Molecular Biology & Genetic Engineering (Plant, Animal & Microbes)
- Gene Expression in cloned animals and stem cells

4. ประสบการณ์ทำงานวิจัย หรือการบริหารงานโครงการร่วมกับ collaborators

4.1 ภาครัฐ: ทำงานวิจัยด้านสเต็มเซลล์ร่วมกับ ศูนย์ความเป็นเลิศทางงานวิจัยสเต็มเซลล์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล คณะแพทยศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 ภาคเอกชน บริษัท: ทำงานวิจัยด้านการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนเพื่อใช้ในการวิจัยร่วมกับบริษัท เมดิซสเต็มเซลล์

4.3 มหาวิทยาลัย สถาบันอื่น ๆ: ทำงานวิจัยด้านสเต็มเซลล์ร่วมกับ คณะแพทยศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : โครงการการผลิตกรดซัคซินิกโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในกระบวนการหมักแบบกะ

ผู้ประสานงานชุดโครงการ การวิจัยโปรตีนแห่งมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

หัวหน้าโครงการวิจัย : มีชื่อโครงการวิจัย ดังต่อไปนี้

- พัฒนาระบบการผลิตโพรทแฟกเตอร์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์และเวชสำอางค์

อยู่ระหว่างดำเนินการ ได้รับงบประมาณปี 2563

- โครงการพัฒนาขีดความสามารถทางเทคโนโลยีและวิจัยของภาคเอกชนในพื้นที่ (IRTC) ผลิตภัณฑ์รีคอมบิแนนท์

อินเตอร์ลิวคิน บริษัท เมดิซสเต็มเซลล์ จำกัด

ส่งมอบผลิตภัณฑ์แล้ว

- ผลิตภัณฑ์คอมบิแนนท์เบสิกไฟโบรบลาสโกรีทแฟกเตอร์ บริษัท เมดชีสเต็มเซลล์ จำกัด
ส่งมอบผลิตภัณฑ์แล้ว
 - การผลิตไซโตไคน์ การทำให้บริสุทธิ์ และการนำไปใช้ในงานวิจัยเซลล์ต้นกำเนิด
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2561
 - การดัดแปลงพันธุกรรมของ *Sacchromyces cerevisiae* เพื่อให้สามารถผลิตเอทานอลจากแป้งมัน
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2561
 - การผลิต *Pichia pastoris* ที่มีโอเมก้า 3 สูง
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2559
 - การพัฒนาเทคนิคเพื่อตรวจเชื้อก่อโรคปนเปื้อนในเนื้อไก่สด
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2559
 - การโคลนและศึกษาการทำงานของ Os1BGlu4 เบตาไกลูโคไซด์เอสจากข้าว
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2557
 - การศึกษาความยาวของเทลโลเมียร์ในลูกแมวที่เกิดจากการโคลนนิ่ง
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2557
 - การหาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ทางพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับความต้านทานโรคแคแวงในมะนาวสายพันธุ์พิจิตร (M33)
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2556
 - ไมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิ Y ของวัว
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2557
 - การโคลนและผลิตโปรตีนไฟโคไซยานินจากไซยาโนแบคทีเรีย
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2555
 - การพัฒนาเครื่องหมายการตรวจสอบย้อนกลับปลานิลจากมทส
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2553
 - การค้นหาและการแสดงออกของกลุ่มยีน Glycosyl Hydrolases ในจีโนมของข้าวหอมมะลิ
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2554
 - การโคลนและผลิตเอ็นไซม์เอนเทอร์โคเนสสายสั้น
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2551
 - การผลิตรีคอมบิแนนท์ทรานสกลูตามิเนสจากปลานิล
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2550
 - การผลิตรีคอมบิแนนท์เอนไซม์ Thermostable DNA polymerase จาก *Pyrococcus furiosus* ในแบคทีเรีย *Escherichia coli*
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2550
 - การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนในถังหมัก
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2549
 - การแสดงออกและการผลิตเบต้ากลูโคไซด์เอส โดย *Pichia pastoris*
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2548
 - การจ าแนกลักษณะทางพันธุกรรม สรีระวิทยา และพฤติกรรมของไก่พื้นเมืองไทย
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2547
 - การหาแผนที่ทางพันธุกรรมของไผ่ตง
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2546
 - การพัฒนาวิธีการตรวจหาชนิดของโครโมโซมเพศปลานิล
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2543
 - การผลิตรีคอมบิแนนท์เอนไซม์ Taq DNA polymerase
ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2541
- และเป็นผู้ร่วมโครงการวิจัยอื่นๆอีกมาก

5. ผลงานเด่น นวัตกรรม และผลกระทบจากผลงานนั้น ๆ ที่เกิดขึ้นในระดับชุมชน ประเทศ หรือนานาชาติ (Success stories and the impacts): เขียนเล่าเรื่อง อธิบาย หรือมีภาพประกอบ

งานทางด้านการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีน เริ่มจากการผลิตโปรตีนจำพวกเอ็นไซม์ เพื่อศึกษาคุณสมบัติของเอ็นไซม์ต่างๆ และใช้งานเองในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ และ ชีวเคมี รวมทั้งเพื่อสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่

จากการร่วมงานทางด้านโคลนนิ่งและสเต็มเซลล์กับ รศ.ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย ทำให้พบว่า โปรตีนจำพวกโกรทแฟกเตอร์ที่ใช้ในงานสเต็มเซลล์ต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาสูงมาก จึงได้เริ่มศึกษาที่จะผลิตโกรทแฟกเตอร์ใช้เอง เมื่อมีผลงานตีพิมพ์และไปนำเสนอในงานภายในและต่างประเทศ มีนักวิจัยให้ความสนใจเป็นจำนวนมาก ซึ่งปัจจุบันนี้นักวิจัย จาก ศูนย์ความเป็นเลิศทางงานวิจัยสเต็มเซลล์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล คณะแพทยศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ น ำผลผลิตจากงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ เพื่อลดการนำเข้าจากต่างประเทศและลดค่าใช้จ่ายลงมาก

อีกทั้งบริษัท เมดิซสเต็มเซลล์ ได้เห็นความสำคัญและให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในการผลิต IL2 อย่างไรก็ดี การนำไปใช้ในอุตสาหกรรมทางการแพทย์ ยังต้องมีการวิจัยและพัฒนากระบวนการผลิตโกรทแฟกเตอร์ตัวอื่นๆ ด้วยและต้องพัฒนาห้องปฏิบัติการให้เป็นระบบ GMP ด้วย

งานวิจัยทางด้านโปรตีนจากแมลงของกลุ่มวิจัยเรา ได้ถูกนำไป น ำเสนอและแข่งขันในงาน Research to Market (R2M) 62 และ R2M63 งาน Food Innopolis 2018 งาน GSB startup Thailand โดยกลุ่มนักศึกษาระดับปริญญาตรี และได้รับรางวัลมาหลายรางวัล ขณะนี้นักศึกษากำลังอยู่ระหว่างการจัดตั้ง บริษัท Start Up

งานวิจัยทางด้าน การแยกเปปไทด์ ก็อยู่ระหว่างการพัฒนาและ นักศึกษาอีกกลุ่มหนึ่งได้นำไปส่งประกวดในงาน R2M 2019 และได้รับรางวัลชนะเลิศ ระดับมหาวิทยาลัย และกำลังจะไปแข่งขันต่อในระดับภูมิภาค ส่วนหนึ่งของงานวิจัยอสุจิโคแยกเพศนี้ อยู่ระหว่างการลงนามในสัญญาซื้อขายผลิตภัณฑ์กับบริษัท SEMEXION PtyLtd ประเทศออสเตรเลีย ทดสอบภาคสนามในประเทศเกาหลี

6. ผลงานตีพิมพ์เชิงวิชาการ: (ในฐานะข้อมูล Scopus 39 เรื่อง H-index 15)

งานที่เกี่ยวข้องกับการผลิต รีคอมบิแนนท์โปรตีนในการวิจัยสเต็มเซลล์

Imsoonthornruksa, S., Pruksananonda, K., Parnpai, R., Rungsiwiwut, R., Ketudat-Cairns, M.

(2015) Expression and purification of recombinant human basic fibroblast growth factor fusion proteins and their uses in human stem cell culture J Mol Microbiol Biotechnol. 25(6):372-380

Imsoonthornruksa, S., Noisa, P., Parnpai, R., **Ketudat-Cairns, M.** (2011) A simple method for production and purification of soluble and biologically active recombinant human leukemia inhibitory factor (hLIF) fusion protein in *Escherichia coli*, *Journal of Biotechnology* (151): 295-302

ผลงานตีพิมพ์เชิงวิชาการ: 5 ปีย้อนหลัง

Panta, W., Imsoonthornruksa, S., Yoisungnern, T., Suksaweang, S., **Ketudat-Cairns, M.**, Parnpai, R. (2019) Sodium butyrate along with epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor supplementation synergistically enhanced hepatogenic differentiation of human Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells *International Journal of Molecular Sciences* (Accepted 17 June 2019)

Udomsil, N., Imsoonthornruksa, S., Gosalawit, C., **Ketudat-Cairns, M.** (2019) Nutritional Values and Functional Properties of House Cricket (*Acheta domesticus*) and Field Cricket (*Gryllus bimaculatus*) *Food Science and Technology Research Sciences* 25(4) (Accepted 26 April 2019) doi: 10.3390/ijms20123016 <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/12/3016/pdf>

Kupradit, C., Innok, S., Woraratphoka, J., **Ketudat-Cairns, M.** (2019) Prevalence and characterization of pathogenic bacteria in bulk tank raw milk, Thailand *WJST* 16(7)
Kupradit, C., & Ketudat-Cairns, M. (2018). Specific Detection of Five Bacterial Foodborne Pathogens by Oligonucleotide Macroarray. *Food and Applied Bioscience Journal*, 7(1), 1-17.

Retrieved from <https://www.tci-thaijo.org/index.php/fabjournal/article/view/127943>

Colli, L., Milanesi, M., Vajana, E., (...), Williams, J.L., Ajmone-Marsan, P. (2018) New insights on water buffalo genomic diversity and post-domestication migration routes from medium density SNP chip data *Frontiers in Genetics* 9, 53

Tanthaisong, P., Imsoonthornruksa, S., Ngermsoungnern, A., Ngermsoungnern, P., **Ketudat-Cairns, M.**, Parnpai, R. (2017) Enhanced chondrogenic differentiation of human umbilical cord wharton's jelly derived mesenchymal stem cells by GSK-3 Inhibitors *PLoS ONE* 12(1),0168059

Kupradit, C., Innok, S., Woraratphoka, J. **Ketudat-Cairns, M.** (2017) Novel multiplex PCR assay for rapid detection of five bacterial foodborne pathogens. *Suranaree J. Sci. Technol.* 24(1):41-50

- Parnpai, R., Ling, Y-Y., **Ketudat-Cairns, M.**, Somfai, T., and Nagai, T. (2016) Vitrification of Buffalo Oocytes and Embryos Theriogenology. 86(1) 214-220
- Dai, W., Gerdthai, T. Huang, Z., **Ketudat-Cairns, M.**, Tang, R. Wang, S. (2015) Genetic analysis for anthocyanin and chlorophyll contents in rapeseed (Brassica napus L.) Ciência Rural 46 (5) 790-795
- Imsoonthornruksa, S., Pruksananonda, K., Parnpai, R., Rungsiwiwut, R., **Ketudat-Cairns, M.** (2015) Expression and purification of recombinant human basic fibroblast growth factor fusion proteins and their uses in human stem cell culture J Mol Microbiol Biotechnol. 25(6):372-380

7. ทรัพย์สินทางปัญญา:

กระบวนการแยกเพศอสุจิโคด้วยไมโนโคลนัลแอนติบอดี ที่มีความจำเพาะต่ออสุจิเพศผู้ของโค และการใช้อสุจิที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวในการปฏิสนธิในหลอดทดลอง

ชื่อผู้ประดิษฐ์ นายสุรชัย รัตนสุข รศ.ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย รศ.ดร.มารีนา เกตุทัต-คาร์นส์"

วันที่ยื่นคำขอ 27/07/55 เลขที่คำขอ 1201004011

วันที่ประกาศโฆษณา 12/01/58 เลขที่ประกาศโฆษณา 141110

ผลิตภัณฑ์ไมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิเพศผู้ของโค และกระบวนการผลิตไมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิเพศผู้ของโคดังกล่าว

ชื่อผู้ประดิษฐ์ นายสุรชัย รัตนสุข รศ.ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย รศ.ดร.มารีนา เกตุทัต-คาร์นส์"

วันที่ยื่นคำขอ 27/07/55 เลขที่คำขอ 1201004012

วันที่ประกาศโฆษณา 21/07/56 เลขที่ประกาศโฆษณา 124729

ดร. สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา

1. ชื่อ: ดร. สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา

2. สาขาวิชา สถานที่ทำงาน: สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

e-mail: tonikuya@hotmail.com

วุฒิการศึกษา

- 2003 B.Sc. Biotechnology Department of Biotechnology, Faculty of Engineering and Industrial Technology, Silpakorn University
- 2008 M.Sc. Biotechnology School of Biotechnology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology
- 2016 Ph.D. Biotechnology School of Biotechnology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology

3. ความเชี่ยวชาญที่โดดเด่น:

- Recombinant protein production
- Stem cell biology
- Cell reprogramming
- Gene editing
- Reproductive technology in animal production

4. ประสบการณ์ทำงานวิจัย หรือการบริหารงานโครงการร่วมกับ collaborators

4.1 ภาครัฐ:

4.1.1 ร่วมวิจัยกับ ดร. บัญชา มะโฮง งานบริหารการผลิตชีววัตถุ ฝ่ายชีววัตถุ องค์การเภสัชกรรม เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนให้ได้มาตรฐาน

4.2 ภาคเอกชน บริษัท: ไม่มี

4.3 มหาวิทยาลัย สถาบันอื่น ๆ:

4.3.1 ร่วมวิจัยกับ รศ. นพ. กำธร พุกขานานนท์ และนสพ. ดร. รัฐจักร รังสีวิวัฒน์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ ไร่เวฬุวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อทดสอบคุณสมบัติทางชีววิทยาของ basic fibroblast growth factor (bFGF) ที่ผลิตได้โดยทดสอบกับเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนมนุษย์

4.3.2 ร่วมวิจัยกับ ดร. ชูติ เหล่าธรรมธร และดร. จันทรเจ้า ล้อทองพานิชย์ ศูนย์ความเป็นเลิศทางงานวิจัยสเต็มเซลล์ของศิริราช (SiSCR) คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล เพื่อต่อยอดการนำรีคอมบิแนนท์โปรตีนไปใช้จริงในระดับห้องปฏิบัติการ

4.3.3 ร่วมวิจัยกับ รศ. ดร. นพ. ภาควิทยา เวชระมัย สาขาเซลล์ชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ เพื่อต่อยอดการนำรีคอมบิแนนท์โปรตีนไปใช้จริงในระดับห้องปฏิบัติการ

4.3.4 ร่วมวิจัยกับ รศ. ดร. เทพปัญญา เจริญรัตน์ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ เพื่อพัฒนาระบบและขยายกำลังการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนในระดับอุตสาหกรรม

4.3.5 ร่วมวิจัยกับ Prof. Dr. Rudolf Jaenisch, Whitehead Institute, Massachusetts Institute of Technology, MA, USA เพื่อศึกษากลไกการควบคุมสถานะ Native State in Human Pluripotent Stem Cells

4.3.6 ร่วมวิจัยกับ Assist. Prof. Dr. Thorold Theunissen, Developmental Biology, Washington University School of Medicine in St. Louis, MO, USA เพื่อศึกษา transcription factors ที่มีบทบาทต่อสถานะ pluripotency ในเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์

4.3.7 ร่วมวิจัยกับ Prof. Dr. Il-Keun Kong, Department of Animal Science, Gyeongsang National University, Republic of Korea เพื่อทดสอบโมโนโคลนอลแอนติบอดีในการแยกเพศน้ำเชื้อโค

5. ผลงานเด่น นวัตกรรม และผลกระทบจากผลงานนั้น ๆ ที่เกิดขึ้นในระดับชุมชน ประเทศ หรือนานาชาติ (Success stories and the impacts): เขียนเล่าเรื่อง อธิบาย หรือมีภาพประกอบ

รีคอมบิแนนท์โปรตีนสามารถผลิตได้จากเซลล์เจ้าบ้านที่เป็นแบคทีเรีย พืช แมลง และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ที่ถูกถ่ายยีนโปรตีนที่ต้องการผลิต ซึ่งนักวิจัยมีความเชี่ยวชาญในการใช้เซลล์แบคทีเรียเช่น *E. coli* และ *P. Pastoris* ในการผลิตโกรทแฟกเตอร์ของมนุษย์ เพื่อใช้การศึกษาคุณสมบัติทางชีววิทยาที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ชนิดต่างๆ ประกอบกับปัจจุบันเซลล์ต้นกำเนิด (Stem cells) ถูกใช้ในการศึกษาทางการแพทย์อย่างหลากหลาย รวมถึงการศึกษาทางชีววิทยาของโรค การคิดค้นยา การบำบัดด้วยยีน และการบำบัดด้วยการแทนที่เซลล์ อย่างไรก็ตาม กลไกรวมถึงการถนอมรักษาและการขยายออกของเซลล์ระยะ undifferentiated state ในหลอดทดลอง (*in vitro*) และการเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์ชนิดต่างๆ (differentiation) ในหลอดทดลอง และในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) ยังคงต้องการมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้รู้กลไกควบคุมที่ชัดเจน ก่อนที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคต่อไป สภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญของเซลล์ คือหนึ่งในตัวแปรสำคัญสำหรับงานวิจัยเซลล์ต้นกำเนิด ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดต้องการโกรทแฟกเตอร์ และไซโตไคน์เป็นตัวช่วยกระตุ้น เพื่อให้เกิดการเพิ่มจำนวน และชักนำให้เป็นเซลล์ชนิดต่างๆ โดยโกรทแฟกเตอร์ และไซโตไคน์ซึ่งมีราคาแพง นอกจากนี้โกรทแฟกเตอร์และไซโตไคน์เป็นโปรตีนหลักที่มีค่าใช้จ่ายสูงในการใช้เลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ เพื่อเป็นการเชื่อมโยงและบูรณาการงานวิจัยการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนกับงานวิจัยเซลล์ต้นกำเนิด นักวิจัยได้ประสบความสำเร็จในการผลิตรีคอมบิแนนท์โกรทแฟกเตอร์มาแล้ว (Imsoonthornruksa et al., 2011) นอกจากนี้ยังได้รับความร่วมมือการวิจัยจากห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดในหน่วยงานต่างๆ เพื่อทดสอบและนำไปใช้ในการเติมลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ ซึ่งได้ผลการทดลองเป็นที่น่าพอใจสามารถใช้ทดแทน

โกรทแฟคเตอร์ที่ซื้อจากต่างประเทศได้ ซึ่งส่งผลให้สามารถลดต้นทุนในการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดได้ 30-50% และปัจจุบันยังไม่มีหน่วยงานใดของภาครัฐ และภาคเอกชนที่สามารถผลิตโกรทแฟคเตอร์เพื่อใช้ในงานด้านเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ โดยผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจะถูกนำเข้าจากต่างประเทศ 100% ซึ่งเป็นเงินจำนวนมาก ดังนั้นการผลิตรีคอมบิแนนท์โกรทแฟคเตอร์จากองค์ความรู้ที่มี จึงเป็นโอกาสและมีความเป็นไปได้ที่จะนำเทคโนโลยีและองค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยไปเพิ่มขนาดการผลิต จนสามารถนำไปสู่การจำหน่ายภายในประเทศ เพื่อลดการนำเข้าสินค้าจากต่างประเทศ

6. ผลงานตีพิมพ์เชิงวิชาการ:

- Theunissen, T. W., Huang, X., **Imsoonthornruksa, S.**, Miguel Fidalgo, M., Carlos Sánchez-Priego, C., Ding, J., Li, D., Lungjangwa, T., Mitalipova, M., Wang, H., Rangarajan, S., Ketudat-Cairns, M. Shen, X., Jaenisch, R., and Wang, J. (2019). An interactome of master transcription factors in human embryonic stem cells. **Nature** (Under revised).
- Udomsil, N., **Imsoonthornruksa, S.**, Gosalawit, C., and Ketudat-Cairns (2019). Nutritional values and functional properties of house cricket (*Acheta domesticus*) and field cricket (*Gryllus bimaculatus*). **Food Sci. Technol. Res.** 25(4): 597-605.
- Panta, W., **Imsoonthornruksa, S.**, Yoisungnern, T., Suksaweang, S., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R (2019). Enhanced hepatogenic differentiation of human Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells by using three-step protocol. **Int. J. Mol. Sci.** 20(12): 3016
- Tanthaisong, P., **Imsoonthornruksa, S.**, Ngernsounghern, A., Ngernsounghern, P., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. (2016). Enhanced chondrogenic differentiation of human umbilical cord Wharton's jelly derived mesenchymal stem cells by GSK-3 inhibitors. **PLoS ONE** 12(1): e0168059. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168059>.
- Imsoonthornruksa, S.**, Pruksananonda, K., Parnpai, R., Rungsiwiwut, R., and KetudatCairns, M. (2015). Expression and purification of recombinant human basic fibroblast growth factor fusion proteins and their uses in human stem cell culture. **J. Mol. Microbiol. Biotechnol.** 25: 372-380.
- De Los Angeles, A., Ferrari, F., Fujiwara, Y., Mathieu, R., Lee, S., Lee. S., Tu, H. C., Ross, S., Chou, S., Nguyen, M., Wu, Z., Theunissen, T. W., Powell. B. E., **Imsoonthornruksa, S.**, Chen, J., Borkent, M., Krupalnik, V., Lujan, E., Wernig. M., Hanna, J. H., Hochedlinger, K., Pei, D., Jaenisch, R., Deng, H., Orkin, S. H., Park, P. J., and Daley, G. Q. (2015). Failure to replicate the STAP cell phenomenon. **Nature** 525: E6-9.

- Theunissen, T. W., Powell, B. E., Wang, H., Mitalipova, M., Faddah, D. A., Reddy, J., Fan, Z. P., Maetze, D., Ganz, K., Shi, L., Lungjangwa, T., **Imsoonthornruksa, S.**, Stelzer, Y., Rangarajan, S., D'Alessio, A., Zhang, J., Gao, Q., Dawlaty, M. M., Young, R. A., Gray, N. S., and Jaenisch, R. (2014). Systematic Identification of Culture Conditions for Induction and Maintenance of Naive Human Pluripotency. **Cell Stem Cell** 15: 471-487.
- Srirattana, K., Sripunya, N., Sangmalee, A., **Imsoonthornruksa, S.**, Liang, Y., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. (2013). Developmental potential of vitrified goat oocytes following somatic cell nuclear transfer and parthenogenetic activation. **Small Ruminant Res.** 112: 141-146.
- Imsoonthornruksa, S.**, Srirattana, K., Phewsoi, W., Tunwattana, W., Parnpai, R., and Ketudat Cairns, M. (2012). Segregation of donor cell mitochondrial DNA in gaur-bovine interspecies somatic cell nuclear transfer embryos, fetuses and an offspring. **Mitochondrion** 12: 506-513.
- Srirattana, K., **Imsoonthornruksa, S.**, Laowtammathron, C., Sangmalee, A., Tunwattana, W., Thongprapai, T., Chaimongkol, C., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. (2012). Full-term development of gaur-bovine interspecies somatic cell nuclear transfer embryos: effect of trichostatin A treatment. **Cell Reprogram.** 14: 248-257.
- Imsoonthornruksa, S.**, Sangmalee, A., Srirattana, K., Parnpai, R. and Ketudat-Cairns, M. (2012). Development of intergeneric and intrageneric somatic cell nuclear transfer (SCNT) catembryos and the determination of telomere length in cloned offspring. **Cell Reprogram** 14: 79-87.
- Imsoonthornruksa, S.**, Lorthongpanich, C., Sangmalee, A., Srirattana, K., Laowtammathron, C., Tunwattana, W., Somsa, W., Ketudat-Cairns, M., Nagai, T., and Parnpai, R. (2011). The effects of manipulation medium, culture system and recipient cytoplasm on in vitro development of intraspecies and intergeneric felid embryos. **J. Reprod. Dev.** 57: 385-392.
- Imsoonthornruksa, S.**, Noisa, P., Parnpai, R., and Ketudat-Cairns, M. (2011). A simple method for production and purification of soluble and biologically active recombinant human leukemia inhibitory factor (hLIF) fusion protein in *Escherichia coli*. **J. Biotechnol.** 151: 295-302.
- Parnpai, R., Srirattana, K., **Imsoonthornruksa, S.**, and Ketudat-Cairns, M., (2011). Somatic cell cloning for livestock and endangered species. **Thai J. Vet. Med. Suppl.** 41: 77-85.

- Imsoonthornruksa, S.**, Lorthongpanich, C., Sangmalee, A., Srirattana, K., Laowtammathron, C., Tunwattana, W., Somsa, W., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. (2010). Abnormalities in the transcription of reprogramming genes related to global epigenetic events of cloned endangered felid embryos. **Reprod. Fertil. Dev.** 22: 613-624.
- Srirattana K., Lorthongpanich, C., Laowtammathron, C., **Imsoonthornruksa, S.**, Ketudat-Cairns, M., Phermthai, T., Nagai, T. and Parnpai, R. (2010). Effect of donor cell types on developmental potential of cattle (*Bos taurus*) and swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) cloned embryos. **J. Reprod. Dev.** 56: 49-54.
- Srirattana K., Laowtammathron, C., Devahudi R., **Imsoonthornruksa, S.**, Sangmalee, A., Tunwattana, W., Lorthongpanich, C., Sripunya, N., Keawmungkun, K., Phewsoi, W., Ketudat-Cairns M., and Parnpai, R. (2009). Effect of Trichostatin A on developmental potential of inter-species cloned gaur (*Bos gaurus*) embryos. **Reprod. Fert. Dev.** 21: 126.
- Imsoonthornruksa, S.**, Lorthongpanich, C., Srirattana, K., Sripunya, N., Laowtammathron, C., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. (2006). Effect of manipulation medium on the development of reconstructed domestic cat embryos. **Reprod. Fert. Dev.** 19: 141.
- Lorthongpanich, C., Srirattana, K., **Imsoonthornruksa, S.**, Sripunya, N., Laowtammathron, C., Kumpong, O., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. (2006). Expression and distribution of Oct-4 in interspecies-cloned long-tailed monkey (*Macaca fascicularis*) embryos. **Reprod. Fert. Dev.** 19: 149.

7. ทรรศนทางปัญญา: ไม่มี

สพ.ญ.รังสิรัตน์ วงศ์สรรพ

1. ชื่อ: สพ.ญ.รังสิรัตน์ วงศ์สรรพ

2. สาขาวิชา สถานที่ทำงาน: ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

หมายเลขติดต่อ 044223143, 0879657540

อีเมลล์ w_rangsirat@sut.ac.th

3. ความเชี่ยวชาญที่โดดเด่น:

- พ.ศ.2560 – ปัจจุบัน สัตวแพทย์ประจำ ณ สถานดำเนินการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
การศึกษา การอบรมและการสัมมนาที่เข้าร่วม

- พ.ศ.2559 สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น

- พ.ศ.2560 เข้าร่วมอบรมโครงการอบรมผู้ขอรับใบอนุญาตใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์

- พ.ศ.2560 เข้าร่วมอบรมโครงการ สัตวแพทย์ประจำ ณ สถานที่ดำเนินการ เพื่อเสริมประสบการณ์
ทางด้านวิทยาศาสตร์สัตว์ทดลอง

- พ.ศ.2560 เข้าร่วมอบรมนานาชาติ หลักสูตรการพัฒนาการเลี้ยงสัตว์ทดลอง เข้าสู่ระบบปลอดเชื้อ
ก่อโรคจำเพาะ SPF รุ่นที่ 1

- พ.ศ.2561 เข้าร่วมอบรมหลักสูตร สัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มเลี้ยงสัตว์ ประเภทโคนมและแพะนม

- พ.ศ.2561 เข้าร่วมอบรมเชิงปฏิบัติการ หลักสูตรสถิติและการวางแผนการวิจัยที่ใช้สัตว์

- พ.ศ.2562 เข้าร่วมสัมมนาเชิงปฏิบัติการ คณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องาน
ทางวิทยาศาสตร์ของสถานที่ดำเนินการ หัวข้อ การจัดทำ SOPs การดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทาง
วิทยาศาสตร์