

กิตติพงษ์ พุฒขาว : การผลิตตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์ที่เป็นโรคฮันติงตัน จากอสุจิของลิง
วอกตัดแปลงพันธุกรรมที่เป็นโรคฮันติงตันเพื่อผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน

(PRODUCTION OF TRANSGENIC HUNTINGTON'S BLASTOCYST FROM
TRANSGENIC HUNTINGTON'S RHESUS MONKEY SPERM AND DERIVATION
OF EMBRYONIC STEM CELL LINES) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์
พาลพ่าย, 110 หน้า

มีรายงานแล้วว่า ลิงวอกตัดแปลงพันธุกรรมที่เป็นโรคฮันติงตัน (rHD-1) ซึ่งมีความ
ผิดปกติของยีน huntingtin (*HTT*) ที่ทำให้เกิดสายโปรตีนกลูตามีนยาวกว่าปกติ (polyQ) ทำให้เกิด
การกระตุกของกล้ามเนื้อ การเกร็งของกล้ามเนื้อ และการไม่สามารถควบคุมการเคลื่อนไหวของ
กล้ามเนื้อได้ ซึ่งคล้ายกันกับการเกิดโรคฮันติงตันแบบปกติ ในการศึกษานี้ได้อธิบายการถ่ายทอด
พันธุกรรมของลิงวอกตัดแปลงพันธุกรรมที่เป็นโรคฮันติงตัน โดยการผลิตตัวอ่อนด้วยวิธีฉีด
อสุจิเข้าเซลล์ไข่ โดยใช้อสุจิจาก rHD-1 แล้วนำตัวอ่อนที่ได้ไปผลิตเป็นเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน
(rHD-ESCs) จากผลการศึกษาพบว่า rHD-ESCs ได้รับการถ่ายทอดพันธุกรรมของยีน mutant *HTT*
และ *GFP* จากอสุจิของลิงวอกตัดแปลงพันธุกรรม โดยคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนถูก
ตรวจสอบด้วย specific makers การเหนี่ยวนำให้เซลล์เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ประสาทและการเกิด
เนื้องอกหลังจากการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิด rHD-ESCs ลงในสมองหนู SCID การแสดงออกของ
GFP ใน rHD-ESCs ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ fluorescent และการแสดงออกของ mutant
HTT ถูกตรวจสอบด้วยวิธี quantitative real time PCR (Q-PCR), DNA sequencing และ
immunocytochemistry การแสดงออกของ mutant *HTT* ใน rHD-ESCs ยังพบว่ามี การแสดงออกของ
intranuclear inclusions ซึ่งเป็นรอยโรคที่จำเพาะต่อ HD นอกจากนี้ยังพบ polyQ region ใน rHD-
ESCs และในอสุจิของ rHD-1 อีกด้วย จากการศึกษาการถ่ายทอดพันธุกรรมของโรคในการศึกษานี้
สามารถนำไปสู่การผลิตลิงจากลิงที่มี mutant *HTT* เพื่อนำไปใช้ศึกษาพัฒนาการของโรคในระยะยาว
ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของโรคใหม่ๆ และนำไปสู่กระบวนการรักษาได้

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 25556

ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

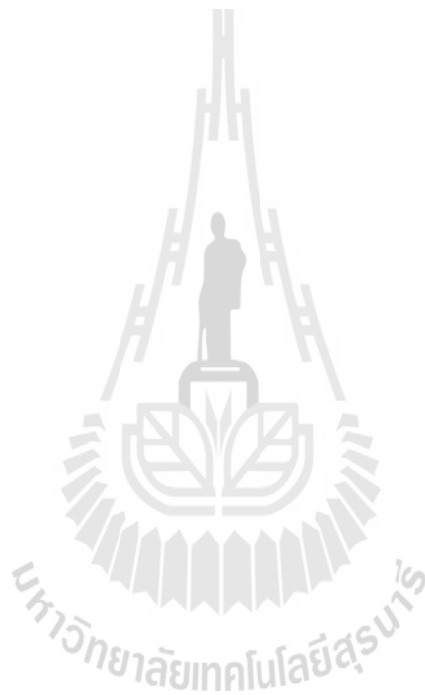
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

KITTIPHONG PUTKHAO : PRODUCTION OF TRANSGENIC
HUNTINGTON'S BLASTOCYST FROM TRANSGENIC HUNTINGTON'S
RHESUS MONKEY SPERM AND DERIVATION OF EMBRYONIC STEM
CELL LINES. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. RANGSUN PARNPAI,
Ph.D., 110PP.

HUNTINGTON'S DISEASE/RHESUS MONKEY/EMBRYONIC STEM CELL

A transgenic Huntington's rhesus monkey (rHD1) has been reported that to carry the mutant *huntingtin* (*HTT*) gene with expanded polyglutamine (CAGs; polyQ) repeats, and it develop chorea, dystonia, and other involuntary motor deficiencies similar to HD. In this study, the germline transmission of rHD1 was demonstrated by using rHD1 sperm produced embryo by intracytoplasmic sperm injection (ICSI) technique. Subsequently, the embryos were used for derivation of rHD1 embryonic stem cells (rHD-ESCs). The rHD-ESCs inherited mutant *HTT* and green fluorescent protein (*GFP*) genes through the gametes of rHD1. Pluripotency of rHD-ESCs was determined by the expression of stem cell specific markers, *in vitro* neural differentiation, and the formation of teratoma in immune compromised mice. Expression of *GFP* in rHD-ESCs was confirmed by fluorescent microscopy, and the expression of mutant *HTT* was determined by quantitative real time PCR (Q-PCR), DNA sequencing, and immunocytochemistry. Mutant *HTT* and form intranuclear inclusion, a classic cellular feature of HD, were observed in rHD-ESCs. Additional expansion of the pathogenic polyQ region was also observed in rHD-ESCs and HD gametes. The confirmation of transgene inheritability in this study advances the

establishment of a cohort of monkeys with inherited mutant *HTT* for longitudinal disease analysis, and they could be useful for development of novel biomarkers and therapeutics.



School of Biotechnology

Academic Year 2012

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____