บทคัดย่อภาษาไทย

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

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

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.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี