รหัสโครงการ SUT3-304-62-36-12

รายงานการวิจัย

โครงการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์ผิวหนังและเซลล์กล้ามเนื้อและการปลูกถ่ายเพื่อรักษาบาดแผลในหนูแรท

Induction of human Wharton's jelly of human umbilical cord derived mesenchymal stem cells to be dermis and skeletal muscle cells and transplantation for wound healing in rat model

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-304-62-36-12

รายงานการวิจัย

โครงการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์ผิวหนังและเซลล์กล้ามเนื้อและการปลูกถ่ายเพื่อรักษาบาดแผลในหนูแรท

Induction of human Wharton's jelly of human umbilical cord derived mesenchymal stem cells to be dermis and skeletal muscle cells and transplantation for wound healing in rat model

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ผู้ร่วมวิจัย

รศ. ดร. มารินา เกตุทัต-คาร์นส์

ศ.ดร. สันติ แม้นศิริ

ดร. สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา

สพญ. รังสิรัตน์ วงสรรค์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2562

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

ตุลาคม 2563

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ทุนงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2562 (งบบูรณาการวิจัยและนวัตกรรม) ซึ่งงานวิจัยสามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือจาก ดร. จิดาภา มุสิกะ ดร.เกษม ธีระกฤตยากร Miss Hong Nguyen นางสาวศิริลักษณ์ สำเร็จงาน และสมาชิกศูนย์วิจัยเทคโนโลยีตัวอ่อนและเซลล์ต้นกำเนิดทุกท่าน ผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

ผู้วิจัย

ตุลาคม 2663

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อภาษาไทย

สายรกมนุษย์จำนวน 2 ตัวอย่างจากผู้บริจาค ถูกนำมาแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ได้สำเร็จ ได้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จำนวน 2 สายพันธุ์ สายพันธุ์ทั้งสองถูกนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ ได้แก่ โปรตีนที่ผิวเซลล์ การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่น (เซลล์กระดูก เซลล์ไขมัน และ เซลล์กระดูกอ่อน) พบว่ามีสายพันธุ์เดียวที่มีคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่เหมาะสมซึ่งจะถูกใช้ในการทดลองอื่นต่อไป ในการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์ได้เปลี่ยนวิธีการวิเคราะห์จากการย้อมเซลล์บนผิวจานเลี้ยงเซลล์มาเป็นการย้อมเซลล์แขวนลอยแล้วนับเซลล์ที่ติดสีย้อมแอนติบอดีด้วยวิธีโฟลไซโทเมทรี ซึ่งวิธีการนี้เป็นวิธีที่ดีกว่าเนื่องจากจะทำให้ได้ข้อมูลสัดส่วนจำนวนเซลล์ที่ติดสีย้อมต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมดด้วย ในกระบวนการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เป็นเซลล์กล้ามเนื้อและผิวหนัง พบว่าสูตรน้ำยาที่ใช้เลี้ยงสามารถเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์กล้ามเนื้อและผิวหนังในระยะเริ่มต้นได้ในระยะเวลา 5 วัน โดยมีการเกิด Desmin และ MHC ซึ่งเป็นเส้นใยโครงร่างของกล้ามเนื้อลาย รวมถึง Vimentin ซึ่งเป็นเส้นใยโครงร่าง และ Collagen I ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเซลล์ไฟโบรบลาสหรือเซลล์ผิวหนังระยะเริ่มต้น อย่างไรก็ตามการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เป็นเซลล์กล้ามเนื้อและผิวหนังในเวลาเดียวกันยังอยู่ในระหว่างการวิจัยในขั้นตอนต่อไป เมื่อได้ผลการวิจัยที่น่าพอใจแล้วจะดำเนินการเลี้ยงเซลล์บนแผ่น fibroin ซึ่งกำลังดำเนินการสกัดโปรตีนไหมและทดลอง fabricate เป็นแผ่นนาโนไฟโบรอิน หลังจากนั้นจะดำเนินการปลูกถ่ายในสัตว์ทดลองต่อไปในปีที่ 2 และ 3 ของการรับทุน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Abstract

Mesenchymal stem cells (MSCs) were successfully isolated from 2 umbilical samples of donors and obtain two cell lines. Both cell lines were examined the characteristics of MSCs, including surface protein expression, colony forming unit (CFU), population doubling time (PDt), and differentiation to other types of cells (osteocytes, adipocytes, and chondrocytes). The results revealed that only one cell line was the appropriate MSCs, which should be used in other experiments. For the cell surface protein analysis, the method was changed from cell staining on the cell culture plate to counting the suspended cell, staining with the antibody to flow cytometry method. This method is preferable because it provides information on the proportion of stained cells per total cell. In the process of induction of MSCs into skeletal muscle and skin cells, the inductin medium could support MSCs differrentiated to the early stage of skeletal muscle cells (myocytes) and skin cells (fibroblasts) at 5 days with the appearances of Desmin and MHC, the microfilament of skeletal muscle includes Vimentin, which is intermediate filament, and Collagen I, a key component of the early fibroblast. However, the differentiation of MSCs into muscle and skin cells is still under research to the next step. When satisfactory results were obtained, the cells will be cultured on fibroin sheets, which is under process of extracting silk proteins and fabricate into fibroin nanofibers. After that, the *in vivo* transplantation to animal model will be performed in the second and the third year of grant.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

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 2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย 2
1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย 2
1.5 เป้าหมายการวิจัย 2
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง 3
2.2 ศักยภาพองค์ความรู้เทคโนโลยีและนวัตกรรมที่จะพัฒนา 4
2.2.1 ขนาดและแนวโน้มของตลาด/โอกาสทางการตลาด 4
2.2.2 ลักษณะเฉพาะ/ความใหม่ของผลงานวิจัยที่แตกต่างจากที่มีในปัจจุบัน 4
2.3 ผลกระทบของโครงการที่มีต่อสังคม ในรูปแบบของการกระจายรายได้ 5
2.3.1 ความต้องการของชุมชน/ปัญหาของชุมชน 5
2.3.2 ผลกระทบที่เกิดจากงานวิจัย 5
3 วิธีการดำเนินการวิจัย 6
3.1 การเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกมนุษย์ 6

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2 การตรวจสอบคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ 6

3.2.1 การตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ด้วยวิธี Fluorescence-Activated Cell Sorting ด้วยเครื่อง Flow cytometry 6

3.2.2 การเลี้ยงเซลล์และการตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ 6

3.2.3 การตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ 7

3.2.4 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่างๆ 8

3.3 การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ผิวหนังและเซลล์กล้ามเนื้อ 9

3.3.1 การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ผิวหนัง และตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์ผิวหนัง ด้วยวิธี Immunocytochemistry 9

3.3.2 การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์กล้ามเนื้อ และตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์กล้ามเนื้อ ด้วยวิธี Immunocytochemistry 10

4 ผลการดำเนินงานวิจัย 11

4.1 ผลการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ 11

4.1.1 ผลการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่ได้จากการเหนี่ยวนำเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่โดย Fluorescence-Activated Cell Sorting ด้วยเครื่อง Flow cytometry 11

4.1.2 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ 13

4.1.3 ผลการตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ 13

4.2 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ 14

4.3 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เป็นเซลล์กล้ามเนื้อและผิวหนัง 16

5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 17

บรรณานุกรม 20

ประวัติผู้วิจัย 23

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์จากการวิเคราะห์โดยวิธี Flow cytometry.....13

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธี flow cytometry ของเซลล์สายพันธุ์ MSC02 12
รูปที่ 2 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธี flow cytometry ของเซลล์สายพันธุ์ MSC06 12
รูปที่ 3 การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ (Colony forming unit (CFU)) ของเซลล์ MSC02 และ MSC06 ใน passage 4, 5, 6, 7 และ 10 13
รูปที่ 4 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์สายพันธุ์ (a) MSC02 และ (b) MSC06..... 14
รูปที่ 5 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC02..... 15
รูปที่ 6 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC06..... 15
รูปที่ 7 การตรวจสอบด้วยการย้อมสีแอนติเจนที่จำเพาะต่อเซลล์ผิวหนังและเซลล์กล้ามเนื้อระยะเริ่มต้น 16

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เซลล์ผิวหนัง (Dermal cells) และเซลล์กล้ามเนื้อ (Skeletal muscle cells) เมื่อได้รับความเสียหายรุนแรงจากอุบัติเหตุ ไฟไหม้ น้ำร้อนลวก หรือจากโรคผิวหนังต่างๆ มักจะสูญเสียความสามารถในการฟื้นฟูตัวเอง ยิ่งในสภาวะที่ผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวาน จะทำให้แผลเกิดการอักเสบที่ยาวนานและรุนแรงกว่าคนปกติ เนื่องจากการสังเคราะห์คอลลาเจนลดลง, การหลั่งของ growth factor ลดลง และการสร้างเส้นเลือดใหม่ (Neovascularization) ลดลง ส่งผลให้การรักษาบาดแผลล่าช้า (Hamada และ, 2017) ซึ่งก่อให้มีอาการบาดแผลเรื้อรัง ต้องเจ็บตัว และสูญเสียเงินในการรักษาเป็นจำนวนมาก ดังนั้นเทคโนโลยีเซลล์บำบัดจึงถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาบาดแผลขั้นวิกฤต โดยจะทำการปลูกถ่ายเซลล์ที่มีคุณสมบัติสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ผิวหนัง และเซลล์กล้ามเนื้อไปยังบาดแผล เพื่อช่วยในการสมานตัวของบาดแผล และการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาใหม่ (Ninagawa และคณะ, 2013) โดยในปัจจุบันเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (mesenchymal stem cells; MSCs) โดยเฉพาะเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกมนุษย์ (human Wharton's jelly mesenchymal stem cells, hWJ-MSCs) กำลังได้รับความสนใจจากนักวิจัยเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นเซลล์ที่สามารถแพร่ขยายจำนวน (Self-renewal) และ สามารถกลายไปเป็นเซลล์กระดูก, เซลล์ไขมัน, และเซลล์กระดูกอ่อน (Multilineage differentiation) ได้ เมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วยสภาวะที่เหมาะสม อีกทั้งมีขั้นตอนการเก็บที่ไม่ซับซ้อน และก่อให้เกิดการบาดเจ็บน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการเก็บเนื้อเยื่อไขกระดูกหรือส่วนอื่น (Han และคณะ, 2011) อีกทั้งยังมีความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดแบบดั้งเดิมสูง (Troyer และ Weiss, 2012) โดยมีรายงานความสำเร็จในการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์ผิวหนัง และเซลล์กล้ามเนื้อ แต่ยังไม่มีการเหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์ผิวหนังร่วมกับเซลล์กล้ามเนื้อไปพร้อมๆกัน ซึ่งบาดแผลที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่มักจะลึกไปถึงชั้นกล้ามเนื้อ

ด้วยเหตุนี้ทางผู้วิจัยจึงจะทำการคัดแยกและเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ในสายรกของมนุษย์ และทำการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ได้ไปเป็นเซลล์ผิวหนังร่วมกับเซลล์กล้ามเนื้อบนแผ่น Fibroin ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยสนันสนุนการเปลี่ยนแปลง (Differentiation) ของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ และจะทำการปลูกถ่ายบนบาดแผลของหนูแรท เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการรักษาบาดแผลของเซลล์ผิวหนังร่วมกับเซลล์กล้ามเนื้อจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ซึ่งอาจนำไปสู่การศึกษา และพัฒนาเทคโนโลยีการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อเพื่อประยุกต์ใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีบาดแผลจากอุบัติเหตุ และแผลกดทับในผู้ป่วยอัมพาต ตลอดจนบาดแผลที่หายได้ยากในผู้ป่วยโรคเบาหวาน

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อคัดแยกและเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่จากสายรกของมนุษย์
2. เพื่อศึกษาความสามารถของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ในการเหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์ผิวหนังร่วมกับเซลล์กล้ามเนื้อ บนแผ่นนาโนไฟเบอร์ Fibroin
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเซลล์ผิวหนังกับเซลล์กล้ามเนื้อบนแผ่นนาโนไฟเบอร์ Fibroin ที่ได้รับจากการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ในการปลูกถ่ายเพื่อรักษาบาดแผลในหนูแรท

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ดำเนินการคัดแยกและเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ จากนั้นทำการตรวจสอบคุณสมบัติของการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ แล้วจึงดำเนินการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์ผิวหนังกับเซลล์กล้ามเนื้อบนแผ่นนาโนไฟเบอร์ Fibroin และตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์ผิวหนังกับเซลล์กล้ามเนื้อ จากนั้นทำการปลูกถ่ายเซลล์ผิวหนังกับเซลล์กล้ามเนื้อบนแผ่นนาโนไฟเบอร์ Fibroin ที่ได้จากการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ เพื่อรักษาบาดแผลในหนูแรท และนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการรักษาบาดแผลบนผิวหนังของหนูแรท และประเมินประสิทธิภาพในการรักษาบาดแผลของหนูแรท หลังการปลูกถ่ายเซลล์เซลล์ผิวหนัง และเซลล์กล้ามเนื้อบนแผ่น Fibroin โดยทำการวัดขนาดของบาดแผลเพื่อคำนวณพื้นที่บาดแผล และคำนวณเปอร์เซ็นต์การสมานตัวของแผล และทำการตรวจสอบทางจุลกายวิภาคศาสตร์เนื้อเยื่อ

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ มีความสามารถที่จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ผิวหนังกับเซลล์กล้ามเนื้อบนแผ่นนาโนไฟเบอร์ Fibroin ได้ อีกทั้งสามารถนำเซลล์ผิวหนังกับเซลล์กล้าม เนื้อบนแผ่น Fibroin มาปลูกถ่ายให้กับหนูแรท และมีประสิทธิภาพในการรักษาบาดแผลให้แก่หนูแรทได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1.5 เป้าหมายการวิจัย

ได้กระบวนการที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเซลล์ผิวหนังและเซลล์กล้ามเนื้อบนแผ่น Fibroin จากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ และได้กระบวนการที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยในการปลูกถ่ายเซลล์ผิวหนังและเซลล์กล้ามเนื้อบนแผ่น Fibroin เพื่อรักษาบาดแผลในหนูแรท

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ เป็นเซลล์ที่สามารถขยายจำนวนได้เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสม และจะต้องมีแสดงออกต่อโปรตีนบนพื้นผิวของเซลล์ CD73, CD90 และ CD105 แต่ต้องไม่แสดงออกต่อโปรตีนบนพื้นผิวของเซลล์ CD34 และ CD45 โดยเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ยังมีคุณสมบัติที่สามารถกลายไปเป็นเซลล์กระดูก, เซลล์ไขมัน, และเซลล์กระดูกอ่อน เมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วยสภาวะที่เหมาะสม เราสามารถพบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ได้จากหลายแหล่ง อาทิเช่น ไขกระดูก, กล้ามเนื้อลาย, ผิวหนัง, เลือด, เนื้อเยื่อไขมัน และโพรงฟัน เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถพบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์เป็นจำนวนมากที่เนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ในสายรกได้อีก (Dominici และคณะ, 2006) ซึ่งเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ในสายรกนั้น จัดเป็นแหล่งเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ที่มีขั้นตอนการเก็บที่ไม่ซับซ้อน สามารถเก็บได้จากหญิงมีครรภ์ภายหลังการคลอดบุตร โดยก่อให้เกิดการบาดเจ็บน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการเก็บเนื้อเยื่อไขกระดูกหรือส่วนอื่น (Han และคณะ, 2011) อีกทั้งยังมีความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดแบบดั้งเดิมสูง (Troyer และ Weiss, 2008) ดังนั้น เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์จึงได้รับความสนใจจากนักวิจัยเป็นอย่างมากในการนำไปศึกษา และพัฒนา เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ โดยเฉพาะด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue Engineering), การปลูกถ่ายเนื้อเยื่อ (Tissue transplantation) และเซลล์บำบัด (Cell therapy)

การรักษาบาดแผล (Wound healing) จากอุบัติเหตุต่างๆ หรือ แผลกดทับในผู้ป่วยอัมพาต โดยเฉพาะบาดแผลในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน จะต้องใช้ระยะเวลาในการรักษาที่นานกว่าคนปกติ และเป็นปัญหาที่พบมากในปัจจุบัน เนื่องจากเมื่อเซลล์ผิวหนังและเซลล์กล้ามเนื้อได้รับความเสียหายรุนแรงจากอุบัติเหตุ หรือโรคต่างๆ มักจะสูญเสียความสามารถในการฟื้นฟูตัวเอง ยิ่งในสภาวะที่ผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวาน จะทำให้แผลเกิดการอักเสบที่ยาวนานและรุนแรงกว่าคนปกติ เนื่องจากการสังเคราะห์คอลลาเจนลดลง, การหลั่งของ growth factor ลดลง และการสร้างเส้นเลือดใหม่ลดลงส่งผลให้การรักษาบาดแผลล่าช้า (Hamada และคณะ, 2017) ดังนั้นเทคโนโลยีเซลล์บำบัดจึงถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาบาดแผล ซึ่งกำลังเป็นที่สนใจของนักวิจัยในขณะนี้ โดยจะทำการปลูกถ่ายเซลล์ที่มีคุณสมบัติสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ผิวหนัง และเซลล์กล้ามเนื้อไปยังบาดแผล เพื่อช่วยในสมานตัวของบาดแผล (Ninagawa และคณะ, 2013) ซึ่งมีการรายงานถึงความสามารถการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ผิวหนังของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ยังหลั่งสารที่ช่วยสนับสนุนการสร้างเส้นเลือดใหม่ (Vascularization) บริเวณบาดแผล รวมทั้งสารที่ช่วยยับยั้งการอักเสบ ได้แก่ indoleamine-2, 3-dioxygenase (IDO), prostaglandin E2 (PGE2) และ tumor necrosis factor a (TNF-a)-stimulated gene 6

(TSG-6) ด้วยคุณสมบัติต่างๆที่กล่าวมานั้น ทำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์เป็นตัวควบคุมระดับเซลล์ที่ช่วยสนับสนุนกระบวนการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ (Tissue regeneration process) (Su และคณะ, 2017) และในปัจจุบัน นอกจากเซลล์ และเฟกเตอร์ต่างๆที่ใช้ในการเหนี่ยวนำเซลล์แล้วนั้น โครงร่าง (Scaffold) ถือเป็นอีกองค์ประกอบที่สำคัญต่องานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ และการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีคุณสมบัติช่วยสนันสนุนการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ โดยไฟโบรอิน (Silk protein fibroin) หรือ โปรตีนจากเส้นไหม ถือเป็นวัสดุจากธรรมชาติที่ถูกใช้กันอย่างแพร่หลายทางงานศัลยกรรมการแพทย์ เนื่องจากมีองค์ประกอบของ collagen, elastin, elastin-like-peptides, albumin และ fibrin ซึ่งมีส่วนช่วยในการสมานตัวของบาดแผล และยังสามารถย่อยสลายได้เอง (Kundu และคณะ, 2013)

ด้วยเหตุนี้ทางผู้วิจัยจึงจะทำการคัดแยกและเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ในสายรกของมนุษย์ และทำการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ได้ไปเป็นเซลล์ผิวหนังร่วมกับเซลล์กล้าม เนื้อบนแผ่นนาโนไฟเบอร์ Fibroin จากนั้นจะทำการปลูกถ่ายบนบาดแผลของหนูแรท เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการรักษาบาดแผลของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ในสายรกของมนุษย์ ซึ่งอาจนำไปสู่การศึกษา และพัฒนาเทคโนโลยีการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อ เพื่อประยุกต์ใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีบาดแผลจากอุบัติเหตุต่างๆ และแผลกดทับในผู้ป่วยอัมพาต ตลอดจนบาดแผลที่หายได้ยากในผู้ป่วยโรคเบาหวาน

2.2 ศักยภาพองค์ความรู้เทคโนโลยีและนวัตกรรมที่จะพัฒนา

2.2.1 ขนาดและแนวโน้มของตลาด/โอกาสทางการตลาด

มีการรายงานว่าชาวอเมริกันเกือบ 7 ล้านคนมีแผลผิวหนังเรื้อรังและ มีการใช้จ่ายเงินหลายพันล้านดอลลาร์สำหรับการรักษาของพวกเขา และมีแนวโน้มว่าจะมีจำนวนผู้ป่วยเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากประชากรที่ป่วยเป็นโรคอ้วน, โรคเบาหวาน และโรคหลอดเลือด ซึ่งเป็นกลุ่มเสี่ยงที่จะเกิดบาดแผลเรื้อรังนั้นเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในประเทศไทยก็มีปัญหาเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้เทคโนโลยีทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ การปลูกถ่ายเนื้อเยื่อและเซลล์บำบัด เข้ามาช่วยรักษา เพื่อให้ผู้ป่วยหายจากอาการบาดแผลเรื้อรังได้ไวที่ โดยนอกจากจะช่วยลดอาการเจ็บปวดแล้ว ยังช่วยลดค่าใช้จ่ายของผู้ป่วยได้อีกด้วย ดังนั้นการศึกษาการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ได้ไปเป็นเซลล์ผิวหนังร่วมกับเซลล์กล้ามเนื้อบนแผ่น Fibroin และการปลูกถ่ายเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการรักษาบาดแผลของหนูแรท นี้ อาจนำไปสู่การพัฒนาต่อยอด เพื่อนำประยุกต์ใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีบาดแผลจากอุบัติเหตุ, แผลกดทับในผู้ป่วยอัมพาต ตลอดจนบาดแผลที่เรื้อรังในผู้ป่วยโรคเบาหวานได้ในอนาคต

2.2.2 ลักษณะเฉพาะ/ความใหม่ของผลงานวิจัยที่แตกต่างจากที่มีในปัจจุบัน

เนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่จากสายรกมนุษย์ เป็นแหล่งของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ ที่พบเป็นจำนวนมากในร่างกายมนุษย์ ที่มีขั้นตอนการเก็บไม่ซับซ้อน สามารถเก็บได้จากหญิงมีครรภ์ภายหลังการคลอดบุตร เซลล์ต้น

กำเนิดมีเซ็นไคม์กำลังได้รับความสนใจจากนักวิจัยเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นเซลล์ที่สามารถแพร่ขยายจำนวนและสามารถกลายไปเป็นเซลล์กระดูก, เซลล์ไขมัน, และเซลล์กระดูกอ่อนได้ เมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วยสภาวะที่เหมาะสม อีกทั้งมีขั้นตอนการเก็บที่ไม่ซับซ้อน และก่อให้เกิดการบาดเจ็บน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการเก็บเนื้อเยื่อไขกระดูกหรือส่วนอื่น อีกทั้งยังมีความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดแบบดั้งเดิมสูง โดยมีรายงานความสำเร็จในการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์ผิวหนัง และเซลล์กล้ามเนื้อ แต่ยังไม่มีการเหนี่ยวนำไปเซลล์ผิวหนังร่วมกับเซลล์กล้ามเนื้อไปพร้อมๆกัน ซึ่งบาดแผลที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่มักจะลึกไปถึงชั้นกล้ามเนื้อ อีกทั้งแผ่นโปรตีน Fibroin ที่จะนำมาใช้นั้น เป็นเทคโนโลยีการผลิต และพัฒนาของนักวิจัยในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีเอง จึงช่วยลดต้นทุนในการทดลองไปได้มาก และเมื่อเทียบกับองค์ความรู้ใหม่ที่จะได้รับ เพื่อนำประยุกต์ใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีบาดแผลเรื้อรังแล้วนั้น ถือว่าคุ้มค่าแน่นอน

2.3 ผลกระทบของโครงการที่มีต่อสังคม ในรูปแบบของการกระจายรายได้ (Income distribution) และการแก้ไขปัญหาของชุมชน

2.3.1 ความต้องการของชุมชน/ปัญหาของชุมชน

เซลล์ผิวหนังและเซลล์กล้ามเนื้อ เมื่อได้รับความเสียหายรุนแรงจากอุบัติเหตุ ไฟไหม้ น้ำร้อนลวก หรือจากโรคผิวหนังต่างๆ มักจะสูญเสียความสามารถในการฟื้นฟูตัวเอง ยิ่งในสภาวะที่ผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวาน จะทำให้แผลเกิดการอักเสบที่ยาวนานและรุนแรงกว่าคนปกติ เนื่องจากการสังเคราะห์คอลลาเจนลดลง, การหลั่งของ growth factor ลดลง และการสร้างเส้นเลือดใหม่ลดลง ส่งผลให้การรักษาบาดแผลล่าช้า ซึ่งก่อให้มีอาการบาดแผลเรื้อรัง ต้องเจ็บตัว และสูญเสียเงินในการรักษาเป็นจำนวนมาก ดังนั้นเทคโนโลยีเซลล์บำบัดจึงถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาบาดแผลขั้นวิกฤต โดยจะทำการปลูกถ่ายเซลล์ที่มีคุณสมบัติสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ผิวหนัง และเซลล์กล้ามเนื้อไปยังบาดแผล เพื่อช่วยในสมานตัวของบาดแผล และการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาใหม่

2.3.2 ผลกระทบที่เกิดจากงานวิจัยในรูปแบบของการลดผลกระทบทางลบ หรือขยายผลกระทบทางบวก

การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ในสายรกของมนุษย์ไปเป็นเซลล์ผิวหนังร่วมกับเซลล์กล้ามเนื้อบนแผ่น Fibroin ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยสนันสนุนการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ และจะทำการปลูกถ่ายบนบาดแผลของหนูแรท เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการรักษาบาดแผลของเซลล์ผิวหนังร่วมกับเซลล์กล้ามเนื้อจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ในสายรกของมนุษย์ ซึ่งอาจนำไปสู่การศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อ เพื่อประยุกต์ใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีบาดแผลจากอุบัติเหตุ และแผลกดทับในผู้ป่วยอัมพาต ตลอดจนบาดแผลที่หายได้ยากในผู้ป่วยโรคเบาหวาน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 การเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกมนุษย์

นำสายรกมนุษย์จากมารดาที่คลอดบุตรจากผู้บริจาคที่ผ่านการลงนามยินยอมจากผู้เข้าร่วมวิจัย ตามข้อกำหนดของคณะกรรมการการวิจัยในมนุษย์ของสถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (Ethics Committee for Researches Involving Human Subjects, Suranaree University of Technology) ตามเอกสารรับรองโครงการวิจัยในมนุษย์เลขที่ EC-61-59 นำมาตัดให้มีความยาวชิ้นละ 5 ซม. และล้างเลือดออกด้วยสารละลาย Phosphate-buffered saline (PBS) จากนั้นกำจัดเส้นเลือดและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ออก หลังจากนั้นตัดเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ให้เป็นขนาด 2-5 มม. แล้วนำมาเลี้ยงในน้ำยา alpha modification of Eagle's medium (α-MEM) ซึ่งประกอบด้วย 2 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin และ 100 µg/ml streptomycin, 10% fetal bovine serum (FBS) โดยเริ่มเลี้ยงใน 6-well dish และเปลี่ยนน้ำยาทุก 3 วัน จากนั้นเลี้ยงเพิ่มจำนวน (passage) จนมีความหนาแน่นของเซลล์ที่ 80% จนกระทั่งถึง passage ที่ 3 จึงนำเซลล์ไปแช่แข็งแล้วเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลว ซึ่งได้มีการเปลี่ยนวิธีการทำการทดลองตามที่ Tanthaisong และคณะ (2017) รายงานไว้ ซึ่งเป็นวิธีล่าสุดที่มีประสิทธิภาพในการคัดแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่

3.2 การตรวจสอบคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์

3.2.1 การตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ด้วยวิธี Fluorescence-Activated Cell Sorting ด้วยเครื่อง Flow cytometry

ตรวจสอบหาคุณสมบัติของการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ด้วยการตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์ที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ ได้แก่ CD73, CD90 และ CD105 และจะต้องไม่มีการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์ของ CD34 และ CD45 ซึ่งเป็น negative marker โดยเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่ passage 5 ในรูปสารแขวนลอยของเซลล์ใน PBS(-) จากนั้นเติมแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนที่ต้องการตรวจสอบโดยเป็นแอนติบอดีที่ติดสาร Fluorescence ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที ต่อมาล้าง PBS(-) 3 ครั้ง แล้วจึงไปวิเคราะห์สัดส่วนของเซลล์ที่ติดสีย้อมต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมดด้วยเครื่อง flow cytometry

3.2.2 การเลี้ยงเซลล์และการตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ (Colony forming unit (CFU) assay)

ทำการเปรียบเทียบการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 (ได้ทำมากกว่าที่อยู่ในข้อเสนอโครงการวิจัย ที่ระบุไว้ว่าจะทำที่ passage 5, 7 และ 10) โดยทำการเลี้ยงเซลล์ตั้งต้นจำนวน 30 เซลล์

ด้วยน้ำยาเลี้ยงเซลล์ในจานเลี้ยงเซลล์ขนาด 35 มม. เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ในการวิจัยครั้งนี้ได้เปลี่ยนเป็นเลี้ยงเซลล์ตั้งต้นจำนวน 200 เซลล์ด้วยน้ำยาเลี้ยงเซลล์ใน 6-well plate โดยน้ำยาจะถูกเปลี่ยนทุกๆ 2 วัน หลังจากนั้นทำการตรึงเซลล์ด้วย 4% paraformaldehyde (PFA) เป็นเวลา 20 นาที แล้วย้อมสีด้วย 3% crystal violet ทำการนับจำนวนโคโลนีกลุ่มเซลล์ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 2 มม. เพื่อเปรียบเทียบจำนวนโคโลนีที่สร้างทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยเทียบกับจำนวนเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ตั้งต้น โดยคำนวณจากสูตร

% CFU = จำนวนโคโลนีที่นับได้ x 100 / จำนวนเซลล์ที่เลี้ยงตั้งต้น

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

3.2.3 การตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Population doubling time, PDt)

นำเซลล์ที่ ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 (ได้ทำมากกว่าที่อยู่ในข้อเสนอโครงการ ที่ระบุไว้ว่าจะทำที่ passage 5, 7 และ 10) ที่เลี้ยงในน้ำยาที่มี 10% FBS จำนวน 4,000 เซลล์/ตารางเซนติเมตร เลี้ยงในจานเลี้ยงเซลล์เส้นผ่าศูนย์กลาง 35 มม. นาน 72 ชั่วโมง แล้วเก็บเซลล์ทั้งหมดมา โดยสุ่มมาย้อมด้วย 0.4% trypan blue เพื่อนับจำนวนเซลล์ และนำเซลล์ที่ไม่ได้ย้อมไปเลี้ยงต่อแบบเดิมจนถึง Passage ที่ 10 โดยทำทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ แล้วหา PDt ตามสูตร

$$PDt = t \times \frac{\log 2}{\log N_H - \log N_I}$$

N_I คือจำนวนเซลล์เริ่มต้น

N_H คือจำนวนเซลล์ที่เก็บได้

t คือระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเซลล์ (ชั่วโมง)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2.4 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่างๆ

3.2.4.1. การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์กระดูก (Osteocyte)

นำเซลล์ที่ passage 5 มาใช้ โดยทำการเลี้ยงเซลล์ใน 6-well plate โดยใช้เซลล์ 3×10^4 เซลล์/well ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบไปด้วย α-MEM ที่เติมด้วย 10% FBS, 10 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin, 100 µl/ml streptomycin เลี้ยงและเปลี่ยนน้ำยาทุก ๆ 3 วัน จนกระทั่งเซลล์มีความหนาแน่นประมาณ 80% จึงนำมาเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์กระดูก โดยแยกเป็นกลุ่ม control โดยใช้น้ำยาที่ไม่มี FBS ประกอบด้วย α-MEM ที่เติมด้วย 100 units/ml penicillin, 100 µl/ml streptomycin และกลุ่มที่เหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์กระดูก จะเติมด้วย 100 nM dexamethasone, 0.2 mM ascorbate-2-phosphate, 10 mM β-glycerophosphate ในน้ำยาเพื่อให้เกิดการ differentiation โดยทำการเหนี่ยวนำเซลล์เป็นระยะเวลา 21 วัน และเปลี่ยนน้ำยาเหนี่ยวนำทุก ๆ 3 วัน โดยน้ำยาที่ใช้เหนี่ยวนำจะเตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง ทำการสังเกตและบันทึกลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่จะมีลักษณะจำเพาะของเซลล์กระดูกภายใต้กล้อง inverted microscope จากนั้นตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์กระดูก โดยย้อมสี Alizarin red เพื่อตรวจสอบการสะสมของแคลเซียมภายในเซลล์ (calcification) ภายใต้กล้อง inverted microscope

3.2.4.2. การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ไขมัน (Adipocyte)

นำเซลล์ที่ passage 5 มาใช้ และทำการเลี้ยงเซลล์ใน 6-well plate โดยใช้เซลล์ 3×10^4 เซลล์/well จนได้ความหนาแน่น 80% โดยแยกเป็นกลุ่ม control โดยใช้น้ำยาที่ไม่มี FBS ประกอบด้วย α-MEM ที่เติมด้วย 100 units/ml penicillin, 100 µl/ml streptomycin และกลุ่มที่ใช้น้ำยาที่ทำให้เกิด differentiation เป็นเซลล์ไขมันที่ประกอบไปด้วย α-MEM, 10% FBS, 10 µg/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. การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน (Chondrocyte)

นำเซลล์ที่ passage 5 มาใช้ และทำการเลี้ยงเซลล์ใน 6-well plate โดยใช้เซลล์ 3×10^4 เซลล์/well จนได้ความหนาแน่น 80% ทำการทดลองแยกเป็นกลุ่ม control โดยใช้น้ำยาที่ไม่มี FBS ประกอบด้วย α-MEM ที่เติมด้วย 100 units/ml penicillin, 100 µl/ml streptomycin และกลุ่มที่ทำการเหนี่ยวนำเซลล์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน ซึ่งเลี้ยงโดยใช้น้ำยาที่ทำให้เกิด differentiation ที่ประกอบไปด้วย α-MEM, 10 µg/ml insulin-transferrin-selenium-ethanolamine (ITS-X), 50 µg/ml ascorbate 2-phosphate, 40 µg/ml L-proline, 100 µg/ml sodium pyruvate, 100 nM dexamethasone, 10 ng/ml, transforming growth factor beta 3 (TGF-β3) 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 การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ผิวหนังและเซลล์กล้ามเนื้อ

3.3.1 การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ผิวหนัง และตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์ผิวหนัง ด้วยวิธี Immunocytochemistry

ทำการเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ passage 5 ประมาณ 1.5×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร ใน 4-well plateและเลี้ยงเซลล์จนได้ความหนาแน่น 80% จากนั้นทำการเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยน้ำยา α-MEM ที่ประกอบด้วย 100 ng/ml connective tissue growth factor (CTGF), 40 ng/ml epidermal growth factor (EGF), 20 ng/ml bFGF, เป็นเวลา 4 วัน โดยเพิ่ม 2% B-27 ลงไปในน้ำยาเพื่อให้เปลี่ยนเป็นเซลล์ผิวหนังได้ดีขึ้น จากนั้นสังเกต และบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่จะมีลักษณะจำเพาะของเซลล์ผิวหนัง และเซลล์กล้ามเนื้อ โดยใช้กล้อง inverted microscope เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ผิวหนังระยะเริ่มต้น (fibroblast) ส่วนเซลล์ผิวหนังจะใช้ specific antibody ต่อ type I collagen และ vimentin โดยใช้ความเข้มข้น 1:100 เท่า (Antibody: PBS (-)) นำไปวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์ โดยจะพบการแสดงออกของโปรตีนภายในเซลล์ที่มีคุณสมบัติของเซลล์ผิวหนัง

3.3.2 การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์กล้ามเนื้อ และตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์กล้ามเนื้อ ด้วยวิธี Immunocytochemistry

ทำการเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ passage 5 ประมาณ 1.5×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร ใน 4-well plateและเลี้ยงเซลล์จนได้ความหนาแน่น 80% จากนั้นทำการเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยน้ำยา DMEM/F12 ที่ประกอบด้วย 1 ng/ml, transforming growth factor-β1 (TGF- β1), non-essential amino acids (NEAA), insulin-transferrin-selenium (ITS) เพื่อเปลี่ยนแปลงให้เป็นเซลล์กล้ามเนื้อระยะเริ่มต้น จากนั้นสังเกต และบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่จะมีลักษณะจำเพาะของเซลล์กล้ามเนื้อ โดยใช้กล้อง inverted microscope เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์กล้ามเนื้อระยะเริ่มต้น (myoblast) จึงใช้แอนติบอดี้ที่จำเพาะกับ Desmin และ myosin heavy chain (MHC) แทนการใช้ MyoD และ TNNI1 ที่ได้ระบุไปในข้อเสนอโครงการวิจัย โดยใช้ความเข้มข้น 1:100 เท่า (Antibody: PBS(-)) นำไปวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์ โดยจะพบการแสดงออกของโปรตีนภายในเซลล์ที่มีคุณสมบัติของเซลล์กล้ามเนื้อ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4

ผลการดำเนินงานวิจัย

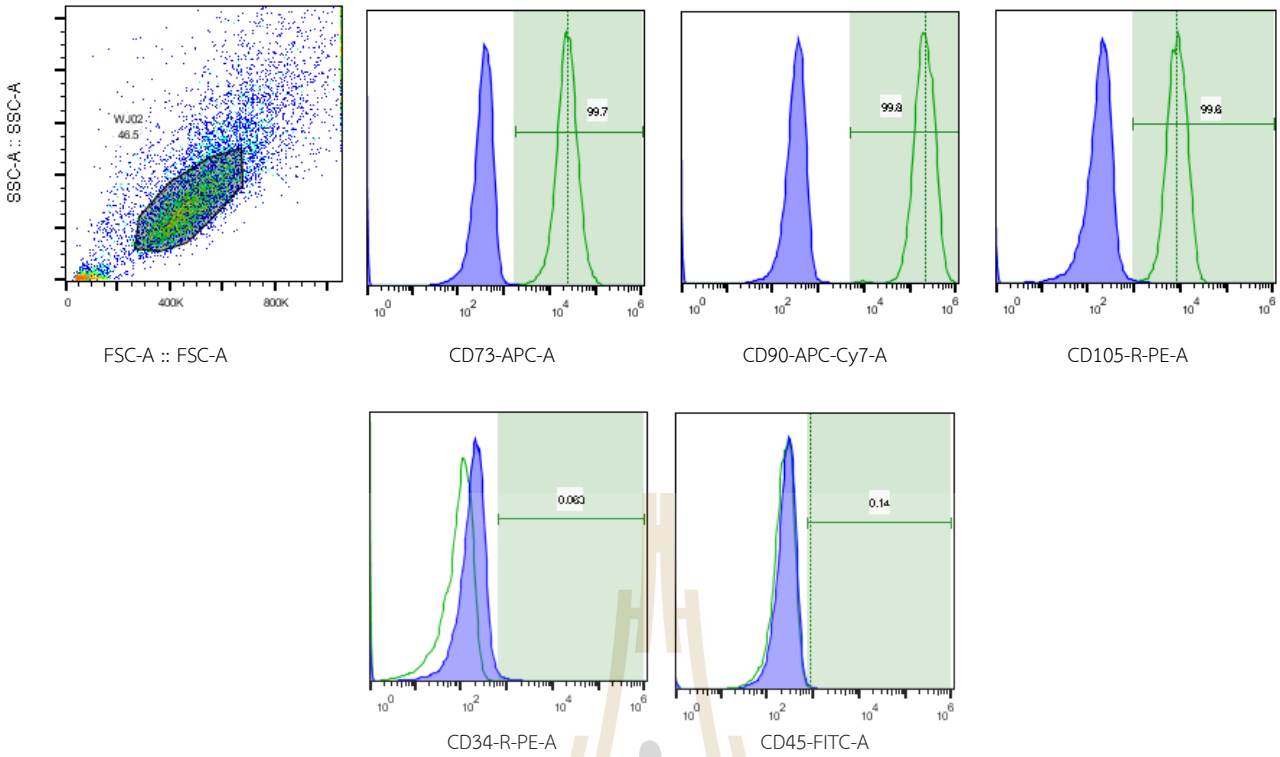
4.1 ผลการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่

สายรกจากผู้บริจาค 2 ตัวอย่าง นำมาแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ ได้ 2 สายพันธุ์ คือ MSC02 และ MSC06 และได้นำมาตรวจสอบคุณสมบัติเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ได้ผลดังต่อไปนี้

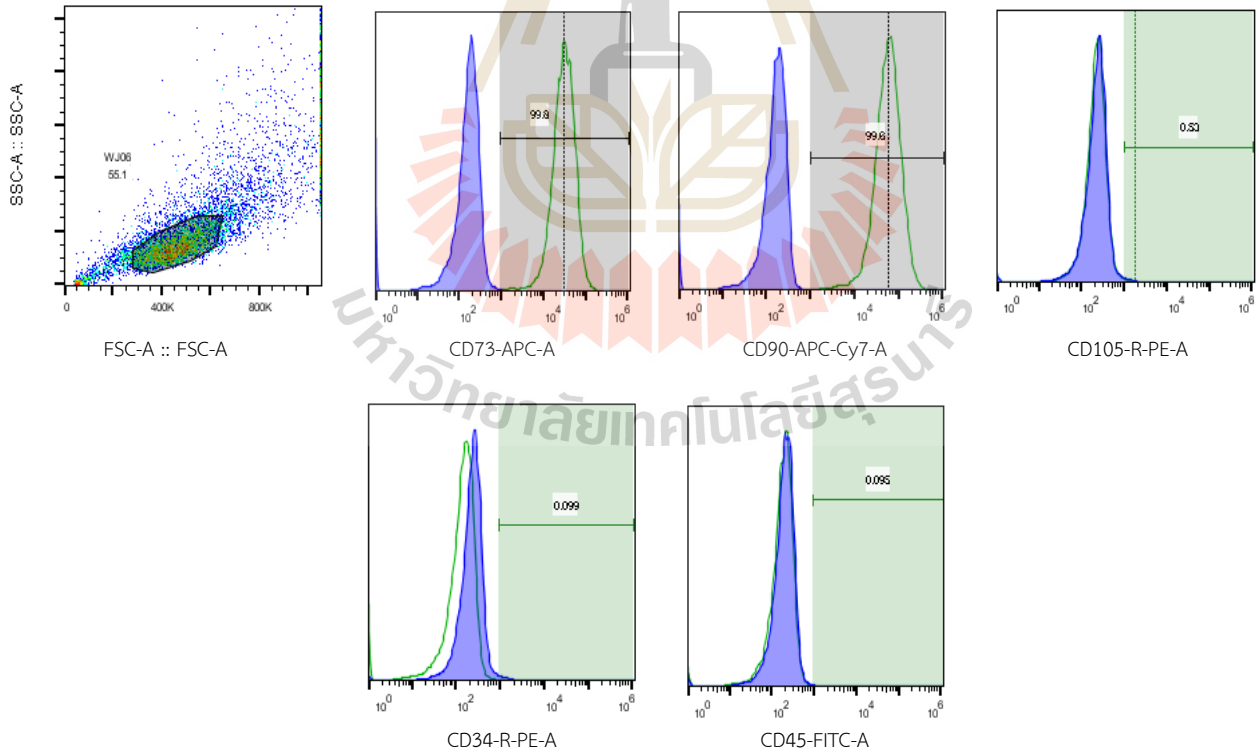
4.1.1 ผลการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่ได้จากการเหนี่ยวนำเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่โดย Fluorescence-Activated Cell Sorting ด้วยเครื่อง Flow cytometry

โปรตีนบนผิวเซลล์ของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์สายพันธุ์ MSC02 และ MSC06 ที่ passage 5 ถูกวิเคราะห์โดยวิธี flow cytometry ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 1 และ 2 และแสดงผลร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์แต่ละชนิดได้ โดยที่ CD73, CD90 และ CD105 และจะต้องไม่มีการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์ของ CD34 และ CD45 ซึ่งเป็น negative marker จากผลการวิเคราะห์เซลล์สายพันธุ์ MSC02 (รูปที่ 1) พบว่ามีเซลล์ที่ปรากฏ CD73 CD90 และ CD105 มากกว่าร้อยละ 95 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD34 และ CD45 น้อยกว่าร้อยละ 2 ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ของ International Society for Cell & Gene Therapy ในขณะที่ เซลล์สายพันธุ์ MSC06 (รูปที่ 2) มีเซลล์ที่ปรากฏ CD73 และ CD90 มากกว่าร้อยละ 95 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD34 และ CD45 น้อยกว่าร้อยละ 2 แต่ไม่มีเซลล์ที่ปรากฏ CD105 ซึ่งต่ำกว่ามาตรฐาน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปที่ 1 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธี flow cytometry ของเซลล์สายพันธุ์ MSC02



รูปที่ 2 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธี flow cytometry ของเซลล์สายพันธุ์ MSC06

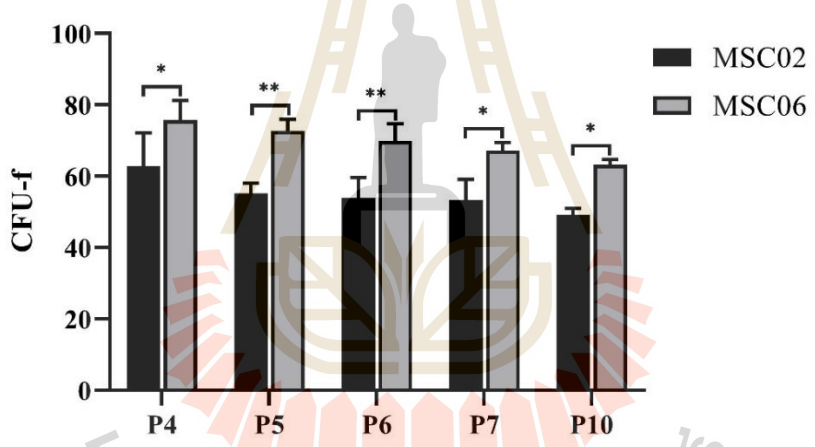
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 1 ร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์จากการวิเคราะห์โดยวิธีโฟลไซโตเมทรี

สายพันธุ์เซลล์	ร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์				
	CD73	CD90	CD105	CD34	CD45
MSC02	99.600	97.800	97.600	0.060	0.140
MSC06	99.800	99.600	0.800	0.099	0.095

4.1.2 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ (Colony forming unit (CFU) assay)

ผลการตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์พบว่า การสร้างโคโลนีของกลุ่มเซลล์สายพันธุ์ MSC02 passage 4, 5, 6, 7 และ 10 อยู่ในช่วง 49.17±1.76 ถึง 62.83±9.28 ต่ำกว่า การสร้างโคโลนีของกลุ่มเซลล์สายพันธุ์ MSC06 ซึ่งอยู่ในช่วง 64.17±2.75 ถึง 75.67±5.51 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P<0.05, **P<0.01) ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ (Colony forming unit (CFU)) ของเซลล์ MSC02 และ MSC06 ใน passage 4, 5, 6, 7 และ 10 (*P<0.05, **P<0.01, ANOVA)

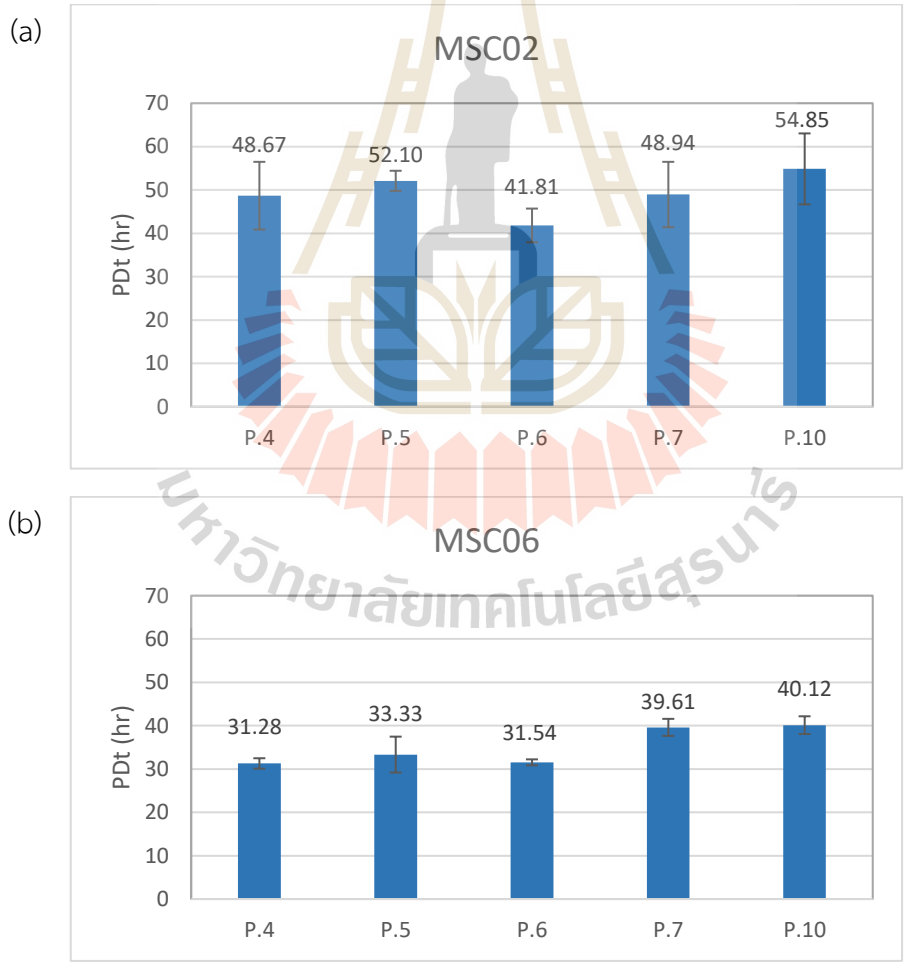
4.1.3 ผลการตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Population doubling time, PDt)

ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์สายพันธุ์ MSC02 และ MSC06 ดังแสดงในรูปที่ 4 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์สายพันธุ์ MSC02 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 มีค่าเป็น 48.67±7.81, 52.10±2.32, 41.81±3.88, 48.94±7.54 และ 54.85±8.19 ตามลำดับ ในขณะที่เซลล์สายพันธุ์ MSC06 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 มีค่าเป็น 31.28±1.21, 33.33±4.14, 31.54±0.69, 39.61±1.96 และ 40.12±2.04 ตามลำดับ ซึ่งเซลล์ทั้งสองสายพันธุ์มีอัตราเร็วในการเพิ่มจำนวนเซลล์อยู่ในช่วงที่ปกติในทุก passage ที่ทำการวิเคราะห์

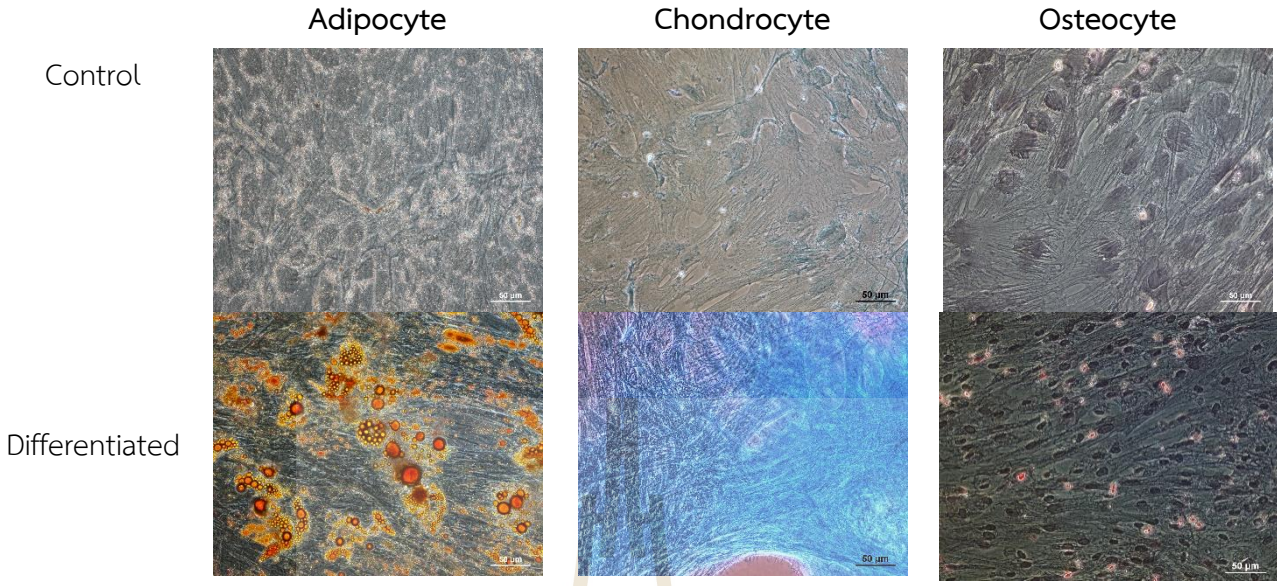
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.2 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ

ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก โดยการใช้สารเหนี่ยวนำในอาหารเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน ดังแสดงในรูปที่ 5 และ 6 ทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC02 และ MSC06 สามารถเปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และเซลล์กระดูกได้ โดยที่ในการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์กระดูก เซลล์สายพันธุ์ MSC02 สามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์กระดูกได้ดีกว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC06 เนื่องจากพบเซลล์ที่ปรากฏการสะสมของแคลเซียมภายในเซลล์ติดสีย้อม Alizarin red ปริมาณมากกว่า ส่วนการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน พบว่าทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC02 และ MSC06 สามารถเปลี่ยนไปเซลล์กระดูกอ่อนได้ดีเนื่องจากพบบริเวณที่ติดสีย้อม Alcian blue จำนวนมาก และเซลล์สายพันธุ์ MSC02 สามารถเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์ไขมันได้ดีกว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC06 เนื่องจากพบการสร้างไขมันภายในเซลล์ (lipid droplet) ติดสีย้อม Oil red O จำนวนมากกว่า



รูปที่ 4 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์สายพันธุ์ (a) MSC02 และ (b) MSC06

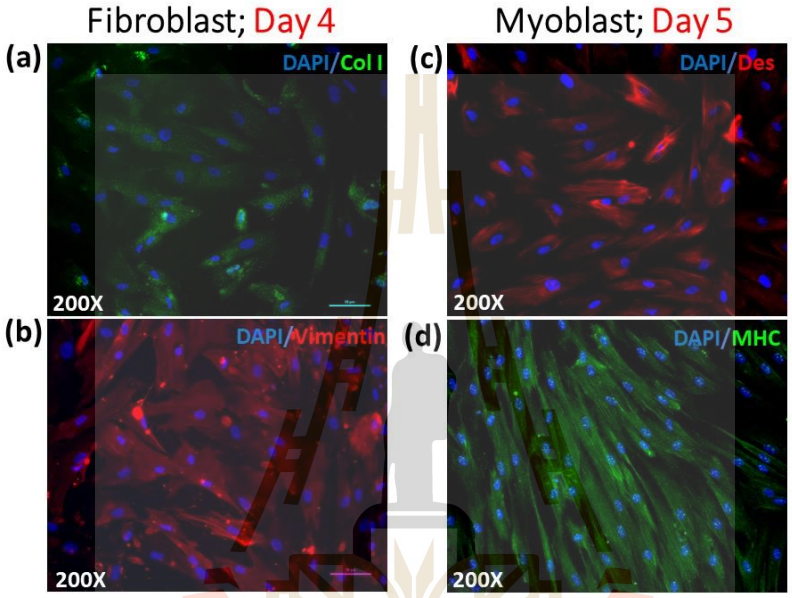


รูปที่ 5 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC02

รูปที่ 6 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC06

4.3 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เป็นเซลล์กล้ามเนื้อและผิวหนัง

เมื่อนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่ได้มาเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์กล้ามเนื้อและผิวหนังด้วยน้ำยาเหนี่ยวนำที่จำเพาะ เป็นเวลา 4 วัน มาตรวจสอบด้วยการย้อมสีแอนติเจนภายในเซลล์ที่จำเพาะต่อเซลล์พบว่ามีการแสดงออกของโปรตีน Collagen I และ Vimentin ซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะของไฟโบรบลาส และไม่พบ Desmin และ MHC ซึ่งเป็นเส้นใยโครงร่างลักษณะจำเพาะของกล้ามเนื้อลาย แต่พบว่าหลังจากการเหนี่ยวนำเป็นเวลา 5 วัน ปรากฏการแสดงออกของโปรตีน Desmin และ MHC ดังแสดงในรูปที่ 7



รูปที่ 7 การตรวจสอบด้วยการย้อมสีแอนติเจนที่จำเพาะต่อเซลล์ผิวหนังระยะเริ่มต้นในวันที่ 4 หลังการเหนี่ยวนำ (a) Collagen I (b) Vimentin และเซลล์กล้ามเนื้อระยะเริ่มต้นในวันที่ 5 หลังจากการเหนี่ยวนำ (c) Desmin และ (d) MHC

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

หมายเหตุ

เนื่องจากโครงการวิจัยนี้ได้รับงบประมาณให้ดำเนินการวิจัยปีแรกเพียงปีเดียว แต่ไม่ได้รับงบประมาณให้ดำเนินการวิจัยในปีที่ 2 และ 3 จึงได้ผลการทดลองเพียงเท่านี้

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

จากการตรวจสอบคุณสมบัติเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่จากสายรกของผู้บริจาคจำนวน 2 สายพันธุ์ คือ MSC02 และ MSC06 โดยการตรวจสอบการแสดงออกของของโปรตีนที่ผิวเซลล์ การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่น (เซลล์กระดูก เซลล์ไขมัน และ เซลล์กระดูกอ่อน) พบว่าเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์สายพันธุ์ MSC02 มีคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่เหมาะสมกว่าเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์สายพันธุ์ MSC06 จากการตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์ของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์สายพันธุ์ MSC02 และ MSC06 ที่ passage 5 ซึ่งถูกวิเคราะห์โดยวิธี flow cytometry ซึ่งเป็นการย้อมเซลล์แขวนลอยแล้วนับเซลล์ที่ติดสีย้อมแอนติบอดี ซึ่งวิธีการนี้เป็นวิธีที่ดีเนื่องจากจะทำให้ได้ข้อมูลสัดส่วนจำนวนเซลล์ที่ติดสีย้อมต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมดด้วย พบว่ามีเซลล์ที่ปรากฏ CD73 CD90 และ CD105 มากกว่าร้อยละ 95 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD34 และ CD45 น้อยกว่าร้อยละ 2 ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ของ International Society for Cell & Gene Therapy (Chan และคณะ, 2018; Horwitz และคณะ., 2005; Kallmeyer และ Pepper, 2015; Lin และคณะ, 2013) และสอดคล้องกับการแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากสายรกในการวิจัยก่อนหน้านี้ (Maleki และคณะ, 2014; Ramos และคณะ, 2016; Yu และคณะ, 2018) ซึ่งพบการแสดงออกของโปรตีน CD73 CD90 และ CD105 แต่ไม่ปรากฏ CD34 และ CD45

การตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์พบว่า ความสามารถในการสร้างโคโลนีของกลุ่มเซลล์สายพันธุ์ MSC02 ต่ำกว่าของกลุ่มเซลล์สายพันธุ์ MSC06 แสดงว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC02 มีความสามารถในการเพิ่มจำนวนด้วยตัวเองต่ำกว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC06 (Sarugaser และคณะ, 2009) แต่อย่างไรก็ตามค่า CFU ของเซลล์สายพันธุ์ยังคงสูงกว่าเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากไขกระดูกมนุษย์ (Akiyama และคณะ., 2012) ซึ่งสามารถสร้างโคโลนีของกลุ่มเซลล์ได้เพียง 20 – 35 ส่วนจากเซลล์เริ่มต้น 1.5×10^6 เซลล์ และการตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์สายพันธุ์ MSC02 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 มีค่าเป็น 41.81±3.88 ถึง 54.85±8.19 ในขณะที่เซลล์สายพันธุ์ MSC06 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 มีค่าเป็น 31.28±1.21 ถึง 40.12±2.04 ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC02 ใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์มากกว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC06 เล็กน้อย อย่างไรก็ตามเซลล์ทั้งสองสายพันธุ์มีอัตราเร็วในการเพิ่มจำนวนเซลล์อยู่ในช่วงที่ปกติในทุก passage ซึ่งสอดคล้องกับระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่าของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อเจริญของหลอดเลือดในสายรกมนุษย์ (Sarugaser et al., 2009) และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากไขกระดูกมนุษย์ (Akiyama และคณะ., 2012) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับ

ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่าของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากสายรกทั้งหมดของมนุษย์ แต่ใช้เวลาน้อยกว่าระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่าของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากจากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่จากสายรกมนุษย์ซึ่งใน passage ที่ 4 – 10 ใช้เวลา 3 – 8 วัน

การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก โดยการใช้สารเหนี่ยวนำในอาหารเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน ทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC02 และ MSC06 สามารถเปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และเซลล์กระดูกได้แต่เซลล์สายพันธุ์ MSC02 สามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์กระดูกได้ดีกว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC06 เนื่องจากพบเซลล์ที่ปรากฏการสะสมของแคลเซียมภายในเซลล์ ติดสีย้อม Alizarin red ปริมาณมากกว่า จากการศึกษาของ Maleki และคณะ (2014) พบว่า การแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์กระดูกของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ ซึ่งจากการวิจัยในครั้งนี้ไม่พบการแสดงออกของโปรตีน CD105 ในเซลล์สายพันธุ์ MSC06 สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์กระดูกของเซลล์สายพันธุ์ MSC06 ซึ่งติดสีย้อม Alizarin red ปริมาณน้อยมาก

ส่วนการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน พบว่าทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC02 และ MSC06 สามารถเปลี่ยนไปเซลล์กระดูกอ่อนได้ดีเนื่องจากพบบริเวณที่ติดสีย้อม Alcian blue จำนวนมาก สอดคล้องกับเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากไขกระดูก (Akiyama และคณะ, 2012; de la Garza-Rodea และคณะ, 2012; Dominici และคณะ, 2006; Mennan และคณะ, 2016) เนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่จากสายรก (Gu และคณะ, 2018; Han และคณะ., 2011; Maleki และคณะ, 2014; Mennan และคณะ, 2016; Pereira และคณะ, 2014; Sarugaser และคณะ, 2009; Seyedi และคณะ, 2015; Yu และคณะ, 2018) และเนื้อเยื่อไขมัน (da Pinheiro และคณะ, 2012; Dunn และคณะ, 2019; Su และคณะ, 2017; Ulrich, 2012)

อีกทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC02 ยังสามารถเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์ไขมันได้ดีกว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC06 เนื่องจากพบการสร้างไขมันภายในเซลล์ (lipid droplet) ติดสีย้อม Oil red O จำนวนมากกว่า โดยยังพบการสร้างไขมันภายในเซลล์ของสายพันธุ์ MSC06 อยู่บ้าง ไม่มีความผิดปกติกับเซลล์สายพันธุ์ MSC06 ในการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ไขมันสอดคล้องกับผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์ไขมันในการวิจัยอื่นๆ (Dominici และคณะ, 2006; Han และคณะ, 2011; Maleki และคณะ, 2014; Sarugaser และคณะ, 2009; Sun และคณะ, 2014) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC02 และ MSC06 สามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่นได้ แต่เซลล์สายพันธุ์ MSC02 มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงได้ดีกว่า ด้วยเหตุนี้เซลล์สายพันธุ์ MSC02 จึงเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการเหนี่ยวนำให้เปลี่ยนเป็นเซลล์ผิวหนังและเซลล์กล้ามเนื้อต่อไป

เมื่อนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์สายพันธุ์ MSC02 มาเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์กล้ามเนื้อและผิวหนังด้วยน้ำยาเหนี่ยวนำที่จำเพาะ (100 ng/ml CTGF, 40 ng/ml EGF, 20 ng/ml bFGF, 2% B-27) เป็นเวลา 4 วัน มาตรวจสอบด้วยการย้อมสีแอนติเจนภายในเซลล์ที่จำเพาะต่อเซลล์พบว่ามีการแสดงออกของโปรตีน Collagen I และ Vimentin ซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะของ skin fibroblast ซึ่งที่ใช้น้ำยาเหนี่ยวนำต่างจากการศึกษาของ Hu และคณะ (2014) ที่ใช้เวลา 15 – 40 วัน หรือ 5 – 25 วัน (Lee และคณะ, 2010) ในการเปลี่ยนแปลงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เป็นเซลล์ skin fibroblast และพบว่าหลังจากการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์สายพันธุ์ MSC02 ด้วยน้ำยาเหนี่ยวนำที่จำเพาะ (1 ng/ml TGF- β1, NEAA, ITS) เป็นเวลา 5 วัน ปรากฏการแสดงออกของโปรตีน Desmin และ MHC ซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะของเซลล์ myoblast หรือเซลล์กล้ามเนื้อในระยะเริ่มต้น ต่างจากการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากต่อมทอนซิลไปเป็นเซลล์กล้ามเนื้อลายจำเป็นต้องเปลี่ยนแปลงเซลล์ในกลุ่มเนื้อเยื่อ endoderm ให้เป็นเซลล์ในกลุ่ม mesoderm โดยใช้ระยะเวลาในการสร้าง sphere 1 – 2 วัน และปล่อยให้ก้อนเซลล์แผ่กระจายเกาะกับพื้นจานเลี้ยงเซลล์ก่อนการเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์กล้ามเนื้อ ซึ่งใช้เวลา 4 วันจึงปรากฏแสดงออกของโปรตีน Desmin และ MHC (Park et al., 2016) หรือการแยกเซลล์ต้นกำเนิดโดยอาศัยตัวบ่งชี้ CD34+ และ Pax7+ ในการคัดเลือกเซลล์ด้วยเครื่อง flow cytometer ก่อนการเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์กล้ามเนื้อระยะเริ่มต้น

สุดท้ายนี้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่จากสายรกมนุษย์ผ่านการวิเคราะห์คุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ พบว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC02 มีคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่เหมาะสมซึ่งจะถูกใช้ในการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เป็นเซลล์กล้ามเนื้อและผิวหนัง พบว่าวิธีที่ใช้ในงานวิจัยสามารถเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์กล้ามเนื้อและเซลล์ผิวหนังในระยะเริ่มต้นได้โดยตรงในระยะเวลา 5 วัน โดยไม่ต้องเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่จากสายรกมนุษย์ไปเป็น sphere เนื่องจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่จากสายรกมนุษย์เป็นเซลล์ที่เปลี่ยนมาจากเนื้อเยื่อ mesoderm เช่นเดียวกับ เซลล์ skin fibroblast และ myoblast มีการเกิด Desmin และ MHC ซึ่งเป็นเส้นใยโครงร่างของกล้ามเนื้อลาย รวมถึง Vimentin ซึ่งเป็นเส้นใยโครงร่าง และ Collagen I ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเซลล์ไฟโบรบลาสหรือเซลล์ผิวหนังระยะเริ่มต้น อย่างไรก็ตามการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เป็นเซลล์กล้ามเนื้อและผิวหนังในเวลาเดียวกันยังอยู่ในระหว่างการวิจัยในขั้นตอนต่อไป เมื่อได้ผลการวิจัยที่น่าพอใจแล้วจะดำเนินการเลี้ยงเซลล์บนแผ่น fibroin ซึ่งกำลังดำเนินการสกัดโปรตีนไหมและทดลอง fabricate เป็นแผ่นนาโนไฟโบรอิน หลังจากนั้นจะดำเนินการปลูกถ่ายในสัตว์ทดลองต่อไป

บรรณานุกรม

Akiyama, K., You, Y. O., Yamaza, T., Chen, C., Tang, L., Jin, Y., … Shi, S. (2012). Characterization of bone marrow derived mesenchymal stem cells in suspension. **Stem Cell Research and Therapy**, *3*(5). https://doi.org/10.1186/scrt131

Chan, C. K. F., Gulati, G. S., Sinha, R., Tompkins, J. V., Lopez, M., Carter, A. C., … Longaker, M. T. (2018). Identification of the Human Skeletal Stem Cell. **Cell**, *175*(1), 43-56.e21.

da Pinheiro, C. H. J., de Queiroz, J. C. F., Guimarães-Ferreira, L., Vitzel, K. F., Nachbar, R. T., de Sousa, L. G. O., … Curi, R. (2012). Local Injections of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Modulate Inflammation and Increase Angiogenesis Ameliorating the Dystrophic Phenotype in Dystrophin-Deficient Skeletal Muscle. **Stem Cell Reviews and Reports**, *8*(2), 363–374. https://doi.org/10.1007/s12015-011-9304-0

de la Garza-Rodea, A. S., van der Velde-van Dijke, I., Boersma, H., Gonçalves, M. A. F. V., van Bekkum, D. W., de Vries, A. A. F., & Knaän-Shanzer, S. (2012). Myogenic properties of human mesenchymal stem cells derived from three different sources. **Cell Transplantatio***n*, *21*(1), 153–173. https://doi.org/10.3727/096368911X580554

Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F. C., Krause, D. S., … Horwitz, E. M. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. **Cytotherapy**, *8*(4), 315–317.

Dunn, A., Talovic, M., Patel, K., Patel, A., Marcinczyk, M., & Garg, K. (2019). Biomaterial and stem cell-based strategies for skeletal muscle regeneration. **Journal of Orthopaedic Research**, *37*(6), 1246–1262. https://doi.org/10.1002/jor.24212

Gu, W., Hong, X., Le Bras, A., Nowak, W. N., Bhaloo, S. I., Deng, J., … Xu, Q. (2018). Smooth muscle cells differentiated from mesenchymal stem cells are regulated by microRNAs and suitable for vascular tissue grafts. **Journal of Biological Chemistry**, *293*(21), 8089–8102.

Hamada, M., Iwata, T., Kato, Y., Washio, K., Morikawa, S., Sakurai, H., … Uchigata, Y. (2017). Xenogeneic transplantation of human adipose-derived stem cell sheets accelerate angiogenesis and the healing of skin wounds in a Zucker Diabetic Fatty rat model of obese diabetes. **Regenerative Therapy**, *6*, 65–73. https://doi.org/10.1016/j.reth.2017.02.002

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Han, Y., Chai, J., Sun, T., Li, D., & Tao, R. (2011). Differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells into dermal fibroblasts in vitro. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, *413*(4), 561–565. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.09.001

Horwitz, E. M., Le Blanc, K., Dominici, M., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F. C., ... Keating, A. (2005). Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. **Cytotherapy**, *7*(5), 393–395. 4

Hu, R., Ling, W., Xu, W., & Han, D. (2014). Fibroblast-like cells differentiated from adipose-derived mesenchymal stem cells for vocal fold wound healing. **PLoS ONE**, *9*(3).

Kallmeyer, K., & Pepper, M. S. (2015). Homing properties of mesenchymal stromal cells. **Expert Opinion on Biological Therapy**, *15*(4), 477–479.

Lee, C. H., Shah, B., Moioli, E. K., & Mao, J. J. (2010). CTGF directs fibroblast differentiation from human mesenchymal stem/stromal cells and defines connective tissue healing in a rodent injury model. **Journal of Clinical Investigation**, *120*(9), 3340–3349.

Lin, C., Ning, H., Lin, G., & Lue, T. F. (2013). Is CD34 truly a negative marker for MSC*s*. *14*(10).

Maleki, M., Ghanbarvand, F., Behvarz, M. R., Ejtemaei, M., & Ghadirkhomi, E. (2014). Comparison of mesenchymal stem cell markers in multiple human adult stem cells. **International Journal of Stem Cells**, *7*(2), 118–126. https://doi.org/10.15283/ijsc.2014.7.2.118

Mennan, C., Brown, S., McCarthy, H., Mavrogonatou, E., Kletsas, D., Garcia, J., ... Roberts, S. (2016). Mesenchymal stromal cells derived from whole human umbilical cord exhibit similar properties to those derived from Wharton's jelly and bone marrow. **FEBS Open Bio**, *6*(11), 1054–1066. https://doi.org/10.1002/2211-5463.12104

Ninagawa, N. T., Isobe, E., Hirayama, Y., Murakami, R., Komatsu, K., Nagai, M., ... Torihashi, S. (2013). Transplantated Mesenchymal Stem Cells Derived from Embryonic Stem Cells Promote Muscle Regeneration and Accelerate Functional Recovery of Injured Skeletal Muscle. **BioResearch Open Acces***s*, *2*(4), 295–306. https://doi.org/10.1089/biores.2013.0012

Park, S., Choi, Y., Jung, N., Yu, Y., Ryu, K. H., Kim, H. S., ... Jung, S. C. (2016). Myogenic differentiation potential of human tonsil-derived mesenchymal stem cells and their potential for use to promote skeletal muscle regeneration. **International Journal of Molecular Medicin***e*, *37*(5),

1209–1220. https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2536

Pereira, T., Armada-Da Silva, P. A. S., Amorim, I., Rêma, A., Caseiro, A. R., Gärtner, A., … Maurício, A. C. (2014). Effects of human mesenchymal stem cells isolated from Wharton's jelly of the umbilical cord and conditioned media on skeletal muscle regeneration using a myectomy model. **Stem Cells Internationa***l*, *2014*. https://doi.org/10.1155/2014/376918

Ramos, T. L., Sánchez-Abarca, L. I., Muntión, S., Preciado, S., Puig, N., López-Ruano, G., … Del Cañizo, C. (2016). MSC surface markers (CD44, CD73, and CD90) can identify human MSC-derived extracellular vesicles by conventional flow cytometry. **Cell Communication and Signaling**, *14*(1), 1–14. https://doi.org/10.1186/s12964-015-0124-8

Sarugaser, R., Hanoun, L., Keating, A., Stanford, W. L., & Davies, J. E. (2009). Human mesenchymal stem cells self-renew and differentiate according to a deterministic hierarchy. **PLoS ONE**, *4*(8). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006498

Seyedi, F., Farsinejad, A., Moshrefi, M., & Nematollahi-Mahani, S. N. (2015). In vitro evaluation of different protocols for the induction of mesenchymal stem cells to insulin-producing cells. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Animal**, *51*(8), 866–878.

Su, N., Gao, P. L., Wang, K., Wang, J. Y., Zhong, Y., & Luo, Y. (2017). Fibrous scaffolds potentiate the paracrine function of mesenchymal stem cells: A new dimension in cell-material interaction. **Biomaterials**, *141*, 74–85. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.06.028

Sun, T., Yu, C., Gao, Y., Zhao, C., Hua, J., Cai, L., … Ma, Y. (2014). Establishment and biological characterization of a dermal mesenchymal stem cells line from bovine. **Bioscience Reports**, *34*(2), 139–146. https://doi.org/10.1042/BSR20130095

Troyer, D. L., & Weiss, M. L. (2012). Wharton's jelly-derived cells are a primitive stromal cell populationNIH Public Access. **Stem Cells**, *26*(3), 591–599.

Ulrich, C. (2012). Mesenchymal Stromal Cells and Fibroblasts. **Journal of Tissue Science & Engineerin***g*, *03*(01), 1–6. https://doi.org/10.4172/2157-7552.1000e109

Yu, Y. Bin, Song, Y., Chen, Y., Zhang, F., & Qi, F. Z. (2018). Differentiation of umbilical cord mesenchymal stem cells into hepatocytes in comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. **Molecular Medicine Reports**, *18*(2), 2009–2016.

ประวัติผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย

1. ชื่อ: รองศาสตราจารย์ ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย

ยื่นผลงานเพื่อขอกำหนดตำแหน่งศาสตราจารย์เมื่อวันที่ 19 กันยายน 2560 และผ่านการประเมินจากมหาวิทยาลัยแล้ว ขณะนี้อยู่ระหว่างรอพระบรมราชโองการโปรดเกล้าโปรดกระหม่อมแต่งตั้ง

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 ประเทศ ไทย

3.2. ปริญญาโท สาขาวิชา สัตววิทยา ปีที่จบ 2525
สถาบัน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศ ไทย
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.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 ไข่ และตัวอ่อน โค-กระบือ

4.5. เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน และเซลล์ต้นกำเนิดร่างกาย ในสิงและมนุษย์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

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 และทำการแช่แข็งตัวอ่อนโดยวิธีวิตริฟิเคชั่น จากนั้นนำตัวอ่อนแช่แข็งเข้ามาย้ายฝากให้โคตัวรับในประเทศไทย มีลูกโคเกิดมามากกว่า 200 ตัว

6.1.2. นายธรรมนูญ ทองประไพ องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย ในการวิจัยการโคลนนิ่งพ่อโคนมพันธุกรรมดีเยี่ยมชื่อแฟคเตอร์ได้โคเกิดมา 4 ตัว มีสุขภาพแข็งแรง และน าไปผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง

6.1.3. น.สพ.วันชัย ตันวัฒนะ องค์การสวนสัตว์ในพระบรมราชูปถัมภ์ ในการวิจัยการโคลนนิ่งกระทิง ได้ลูกกระทิงโคลนนิ่งเกิดมา 1 ตัว

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

6.2 ภาคเอกชน บริษัท:

6.2.1. นายสุริยา กิจสำเร็จ เอสเคพัทยาแรนช์ในการวิจัยโคลนนิ่งโคบราห์มัน ได้ลูกโคโคลนนิ่งเกิดมา 7 ตัวจากเซลล์ต้นแบบโคบราห์มันเทาเพศผู้ชื่อตูมตาม มีสุขภาพแข็งแรงดี และมีลูกโคโคลนนิ่งเกิดมา 4 ตัว จากเซลล์ต้นแบบโคบราห์มันแดงเพศเมียชื่อเบ๊นซ์ มีสุขภาพแข็งแรงดี

6.2.2. นพ. วีรพล เขมะรังสรรค์ บจก. เมดิซ สเต็มเซลล์ ในการวิจัยการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ของมนุษย์ให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์เซลล์กระจกตา เซลล์กระดูกอ่อน เซลล์นิวโรสเฟียร์เซลล์ผิวหนังและเซลล์กล้ามเนื้อ เพื่อนำไปปลูกถ่ายให้สัตว์ทดลองที่เป็นโมเดลของภาวะกระจกตาเสื่อม ข้อเข่าเสื่อม อัมพาตจากไขสันหลังฉีกขาด บาดแผลจากอุบัติเหตุ แผลกดทับ และแผลเบาหวาน เพื่อหาข้อมูลในการประยุกต์ใช้ในการรักษามนุษย์ โดยเฉพาะในสังคมผู้สูงวัย ซึ่งอยู่ระหว่างทำการทดลอง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.2.3. ฟาร์มโคนมปักธงชัย บจก. ซีพีเอฟ ในการวิจัยการผลิตตัวอ่อนโคนมพันธุ์ดีเยี่ยมโดยการนำไข่ที่เจาะเก็บจากโคนมมีชีวิตด้วยอัลตราซาวด์ แล้วนำไข่ไปปฏิสนธิกับนำเชื้อโคนมพันธุ์ดีเยี่ยมในหลอดแก้ว แล้วนำตัวอ่อนไปย้ายฝากให้โคตัวรับ ได้ลูกโคเกิดมากว่า 40 ตัว

6.3 มหาวิทยาลัย สถาบันอื่น ๆ:

6.3.1. ดร.ทัศนีย์ เพิ่มไทย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในการวิจัยการเพาะแยกเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อโพรงฟันมนุษย์ภายใต้สภาวะปลอดผลิตภัณฑ์จากสัตว์เพื่อประโยชน์ในการรักษา

6.3.2. รศ.นพ.กำธร พฤกษานานนท์ 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 กันยายน2529 นับเป็นรายแรกของประเทศไทย (ขณะทำงาน ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ) ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของการนำการย้ายฝากตัวอ่อนไปใช้ในการเพิ่มจำนวนและปรับปรุงพันธุ์โคนมและโคเนื้อพันธุกรรมดีเยี่ยมจนถึงปัจจุบัน

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

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

7.4. ประสบความสำเร็จการโคลนนิ่งตัวอ่อนกระบือปลักโดยใช้เซลล์ร่างกายลูกอ่อนโคและเซลล์แกรนูโลซาเป็นเซลล์ต้นแบบ นับเป็นรายแรกของโลกที่ทำและตีพิมพ์ผลงานใน Buffalo Journal 1999, 15: 371-384. (ขณะทำงาน ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ) ทำให้ประเทศไทยได้รับการยอมรับในระดับนานาชาติทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพในสัตว์ระดับสูง โดยเฉพาะในกระบือ ทำให้ได้รับเชิญไปบรรยายในหัวข้อการโคลนนิ่งกระบือ ในการประชุม 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 “ตูมตาม” โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งจากเซลล์ต้นแบบตัวเดียวกัน 7 ตัวเกิดมา มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรงดีมาก ลูกโคทุกตัวผ่านการตรวจสอบดีเอ็นเอแล้วพบว่ามีดีเอ็นเอเหมือน“ตูมตาม”เจ้าของเซลล์ต้นแบบทุกประการ

7.6. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งโคบราห์มันแดงเพศเมียชื่อ “เบ๊นส์” โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งจากเซลล์ต้นแบบตัวเดียวกัน 4 ตัวเกิดมา และได้น้อมเกล้าถวายแด่สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ โดยทรงโปรดเกล้าให้นำไปเลี้ยงในโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา

7.7. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งโคนมขาวดำเพศเมียหมายเลข “346” โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งจากเซลล์ต้นแบบตัวเดียวกัน 3 ตัวเกิดมา มีสุขภาพแข็งแรง และได้น้อมเกล้าถวายแด่สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ โดยทรงโปรดเกล้าให้น าไปเลี้ยงในโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา

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” และได้น้อมเกล้าถวาย “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 “โคพันธุ์โคราชวากิว” ซึ่งเกิดจากการนำน้ำเชื้อโควากิวพันธุ์แท้ (Full blood) มาผสมกับโคเนื้อในประเทศไทย โดยได้เก็บข้อมูลระหว่างปี 2548-2550 พบว่า ณ ขณะนั้นยังไม่มีหน่วยงานใดผลิตโควากิวลูกผสมที่ให้เนื้อเกรดพรีเมี่ยมที่มีเนื้อนุ่มไขมันแทรกสูงเพราะคิดว่าเลี้ยงยากมีความเสี่ยงที่โคปรับตัวไม่ได้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (มทส.) โดย รศ.ดร.รังสรรค์ พาลพ่ายผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีชีวภาพในการปรับปรุงพันธุ์โค ที่สำเร็จการศึกษาจากประเทศญี่ปุ่น และผ่านการดูงานการเลี้ยงโควากิวในหลายประเทศ จึงได้ริเริ่มนำน้ำเชื้อโควากิวพันธุ์แท้ให้เกษตรกรนำไปใช้ผสมเทียมให้กับโคเนื้อเพื่อรับซื้อลูกโครุ่น

แรก (F1) กลับมาขุนและปรับปรุงพันธุ์ต่อไปโดยเริ่มต้นตั้งแต่ปี 2551 ได้เชิญชวนเกษตรกรเข้าหุ้นซื้อพ่อโควากิว พันธุ์แท้ จากประเทศออสเตรเลีย อายุ 19 เดือน 1 ตัว ราคา 700,000 บาท นำเข้ามาในเดือนกันยายน 2551 ได้รับการตั้งชื่อว่า “โกโบริ” โดยได้นำไปเลี้ยงในฟาร์มวิจัยของ”ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีตัวอ่อนและเซลล์ต้นกำเนิด” ภายใน มทส. ซึ่งเป็นคอกปกติเหมือนการเลี้ยงโคเนื้อทั่วไป ไม่ต้องติดแอร์ไม่ต้องกางมุ้ง เพื่อผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งให้ผู้ถือหุ้นร้อยกว่าคนนำไปผสมเทียมให้กับแม่โค ตั้งแต่ปี 2551 มทส. ได้เริ่มจัดอบรมวิธีการปรับปรุงพันธุ์โคเนื้อโดยใช้น้ำเชื้อโควากิวผสมเทียมและวิธีการขุนให้ได้เนื้อเกรดพรีเมียมมีไขมันแทรกสูง ให้กับเกษตรกรจังหวัดนครราชสีมา สุรินทร์ บุรีรัมย์ ระยอง นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี ระหว่างนี้ทีมงานสัตวแพทย์ได้เก็บข้อมูลสุขภาพของโกโบริ พบว่าไม่มีปัญหาทุกๆด้าน ทำให้มีความมั่นใจว่าโควากิวพันธุ์แท้เลี้ยงได้ดีไม่มีปัญหา ทำให้เกษตรกรรวมตัวกันซื้อตัวอ่อนโควากิวพันธุ์แท้แช่แข็งจากประเทศออสเตรเลีย มาให้ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีตัวอ่อนและเซลล์ต้นกำเนิด ทำการย้ายฝากให้แม่โคตัวรับมีลูกโคเกิดมาเป็นเพศเมีย 2 ตัว และเพศผู้ 7 ตัว ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งโควากิวพันธุ์แท้ไว้ใช้ผสมเทียมให้กับโคลูกผสมวากิวรุ่นต่อไป

นอกจากนี้ มทส. ยังเป็นตัวกลางในการลงนามสัญญารับซื้อโคขุนระหว่างพ่อค้าเนื้อชาวญี่ปุ่นกับกลุ่มเกษตรกรเลี้ยงโคสุรินทร์โกเบ ในระหว่างนี้ มทส. ยังจัดอบรมอย่างต่อเนื่องให้เกษตรกรจากทุกจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และจังหวัดอื่นๆ ทั่วทุกภาครวมแล้วกว่า 4,000 คน เกษตรกรที่ผ่านการอบรมได้ตั้งชื่อโคที่ผลิตได้ตามท้องถิ่นที่ผลิตเช่น ศรีเชียงใหม่วากิว นครพนมวากิว หนองสูงวากิว ระยองวากิว สกลนครวากิว บุรีรัมย์วากิว เป็นต้น มีการรวมตัวของเกษตรกรจัดตั้งสหกรณ์และวิสาหกิจชุมชนเลี้ยงโคลูกผสมวากิวกันหลายแห่งทั่วทุกภาค ทำให้เนื้อโคโคราชวากิวได้รับการยอมรับนำไปจำหน่ายในซุปเปอร์มาร์เก็ตของห้าง สยามพารากอน เครือเดอะมอลล์ทุกห้าง ห้างเซ็นทรัล ภัตตาคาร โรงแรมต่างๆ ทั้งในกรุงเทพ และต่างจังหวัด ในปี 2560 รัฐบาลได้จัดให้การผลิตโคโคราชวากิวเป็นยุทธศาสตร์หลักด้านการเกษตรของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยมีจังหวัดนครราชสีมา เป็นศูนย์กลางการถ่ายทอดเทคโนโลยีให้เกษตรกร มีการลงนามบันทึกข้อตกลงระหว่าง มทส. กับ 27 วิสาหกิจชุมชนเลี้ยงโควากิวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทำให้โคพันธุ์โคราชวากิวในระยะเริ่มต้น จนมีเกษตรกรภาคตะวันออกเฉียงเหนือให้การยอมรับจนกลายเป็น “อีสานวากิว” ซึ่งสอดคล้องกับนโยบาย “อีสาน 4.0” ของรัฐบาลปัจจุบัน และก าลังขยายต่อเนื่องไปทั่วประเทศไทยกลายเป็น “ไทยวากิว” รัฐบาลโดยนายกรัฐมนตรีได้จัดให้การผลิตโควากิวเป็นหนึ่งในนโยบายหลักของรัฐบาลในการแถลงต่อรัฐสภาระหว่างวันที่ 25-26 กรกฎาคม 2562 ซึ่งจะทำให้สามารถลดการนำเข้าเนื้อโคเกรดพรีเมี่ยมและส่งออกไปขายต่างประเทศได้ภายใน 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 โรงแรมสยามซิตี 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 โรงแรมฮิลตัล 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 กรกฎาคมถึง 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 สุรสัมนาคาร 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 สุรสัมนาคาร 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 สุรสัมนาคาร และห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นก าเนิดอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 ชั้น 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมีผู้เข้าอบรม 60 คน

9. ผลงานตีพิมพ์เชิงวิชาการ:

9.1. การเขียนตำรา-หนังสือ

9.1.1. **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2530. การเร่งการตกไข่เพื่อทำอีทีในโค. มณีวรรณ กมลพัฒนะ (บรรณาธิการ), *การปฏิสนธิในหลอดแก้วและการย้ายฝากตัวอ่อน*. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, หน้า 41-77.

9.1.2. **รังสรรค์ พาลพ่าย**และ สรรเพชญ โสภณ. 2530. เทคนิคการย้ายฝากตัวอ่อนในโคโดยวิธีไม่ผ่าตัด. มณีวรรณ กมลพัฒนะ (บรรณาธิการ), *การปฏิสนธิในหลอดแก้วและการย้ายฝากตัวอ่อน* โรง พิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, หน้า 133-158.

9.1.3. **รังสรรค์ พาลพ่าย** สรรเพชญ โสภณ มณีวรรณ กมลพัฒนะ กำธร มีบำรุง กิติยา ศรีศักดิ์วัฒนะ ประชุม อินทรโชติ ธวัชชัย สุวรรณกำจาย ประภากร วัฒโนดร พฤฒิ เกิดชูชื่น และ สมสวัสดิ์ ตันตระกูล. 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 สาส์ณ โฮลติ้ง, 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 Milanesi, 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,Liguo 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., Suttirojpattana, T, Takayama, M., Liang, Y., Dochi, O., **Parnpai, R.*** and 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

Suttirojpattana, 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., Suttirojpattana, T, Takayama, M., Liang, Y., Dochi, O., **Parnpai, R.*** and 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.

Suttirojpattana, 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.

Suttirojpattana, 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.

Suttirojpattana, 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.x

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 cytoplast 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 humen 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.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

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. ทรัพย์สินทางปัญญา:

10.1. การจดสิทธิบัติ

10.1.1. รังสรรค์ พาลพ่าย วิศิษฐิพร สุขสมบัติ อาวุธ อินทรชื่น อุดมวิทย์ มณีวรรณ คมสัน ภาษยเดช แสงเพ็ชร งอนชัยภูมิ ป้องภัยรี มีสมบัติ สมิง เติมพรมราช "อุปกรณ์ควบคุมการเคลื่อนที่ก้านสูบของไมโครไซริงท์" ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 11 มิถุนายน 2547 ได้รับสิทธิบัติเมื่อเดือน เมษายน 2550

10.1.2. รังสรรค์ พาลพ่าย วิศิษฐิพร สุขสมบัติ อาวุธ อินทรชื่น อุดมวิทย์ มณีวรรณ คมสัน ภาษยเดช แสงเพ็ชรงอนชัยภูมิ ป้องภัยรี มีสมบัติ สมิง เติมพรมราช ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ วิชัย ศรีสุรักษ์ "เครื่องเชื่อมเซลล์ด้วยไฟฟ้ากระแสตรง" ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 11 มิถุนายน 2547

10.1.3. สุรชัย รัตนสุข รังสรรค์ พาลพ่าย มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ "ผลิตภัณฑ์โมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิเพศผู้ของโค และกระบวนการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิเพศผู้ของโคดังกล่าว" ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 27 กรกฎาคม 2555

10.1.4. สุรชัย รัตนสุข รังสรรค์ พาลพ่าย มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ "กระบวนการแยกเพศอสุจิโคด้วยโมโนโคลนัลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่ออสุจิเพศผู้ของโค และการใช้อสุจิที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวในการปฏิสนธิในหลอดทดลอง" ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 27 กรกฎาคม 2555

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

11. รางวัลที่ได้รับ

11.1. จากผลงานวิจัยการย้ายฝากตัวอ่อนโคนมจนประสบผลสำเร็จ ได้ลูกแฝดโคนมเกิดมาครั้งแรกของประเทศไทยเมื่อวันที่ 8 กันยายน 2529 ท าให้งานวิจัยนี้ถูกยกย่องให้เป็น 1 ใน 10 ข่าวเด่นของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

11.2. รางวัลนักวิจัยดีเด่น จากสมาคมเทคโนโลยีชีวภาพแห่งประเทศไทย ได้รับเชิญเป็นผู้ปาฐกถา อายิโน๊ะโมะโต๊ะ เรื่อง “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 จากเครือเดอะเนชั่น

11.5. รางวัลผลงานวิจัยดี (อันดับ 1 สาขาสัตว์) ในการเสนอผลงานวิจัยเรื่อง “การอนุรักษ์โคพันธุ์ขาวลำพูนโดยการทำโคลนนิ่ง” 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

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

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 & Mibrobes)
- Gene Expression in cloned animals and stem cells

4. ประสบการณ์ทำงานวิจัย หรือการบริหารงานโครงการร่วมกับ collaborators

4.1 ภาครัฐ: ทำงานวิจัยด้านสเต็มเซลล์ร่วมกับ ศูนย์ความเป็นเลิศทางงานวิจัยสเต็มเซลล์ คณะแพทยศาสตรศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล คณะแพทย์ศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย

4.2 ภาคเอกชน บริษัท: ทำงานวิจัยด้านการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนเพื่อใช้ในการวิจัยร่วมกับบริษัท เมดิชสเต็มเซลล์

4.3 มหาวิทยาลัย สถาบันอื่น ๆ: ทำงานวิจัยด้านสเต็มเซลล์ร่วมกับ คณะแพทย์ศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : โครงการการผลิตกรดซัคซินิคโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในกระบวนการหมักแบบกะ
ผู้ประสานงานชุดโครงการ การวิจัยโปรตีนแห่งมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
หัวหน้าโครงการวิจัย : มีชื่อโครงการวิจัย ดังต่อไปนี้

- พัฒนากระบวนการผลิตโกรทแฟคเตอร์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์และเวชสำอางค์

อยู่ระหว่างดำเนินการ ได้รับงบประมาณปี 2563

- โครงการพัฒนาขีดความสามารถทางเทคโนโลยีและวิจัยของภาคเอกชนในพื้นที่ (IRTC) ผลิตรีคอมบิแนนท์ อินเตอร์ลิวคิน บริษัท เมดีซสเต็มเซลล์ จำกัด ส่งมอบผลิตภัณฑ์แล้ว
- ผลิตรีคอมบิแนนท์เบสิกไฟโบรบลาสโกรท์แฟกเตอร์ บริษัท เมดีซสเต็มเซลล์ จำกัด ส่งมอบผลิตภัณฑ์แล้ว
- การผลิตไซโตไคน์ การทำให้บริสุทธิ์ และ การนำไปใช้ในงานวิจัยเซลล์ต้นกำเนิด ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2561
- การดัดแปลงพันธุกรรมของ Sacchromyces cerevisiae เพื่อให้สามารถผลิตเอธานอลจากแป้งมัน ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2561
- การผลิต Pichia pastoris ที่มีโอเมก้า 3 สูง ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2559
- การพัฒนาเทคนิคเพื่อตรวจเชื้อก่อโรคปนเปื้อนในเนื้อไก่สด ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2559
- การโคลนและศึกษาการทำงานของ Os1BGlu4 เบตากลูโคไซเดสจากข้าว ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2557
- การศึกษาความยาวของเทลโลเมียร์ในลูกแมวที่เกิดจากการโคลนนิ่ง ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2557
- การหาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ทางพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับความต้านทานโรคแคงเกอร์ในมะนาวสายพันธุ์พิจิตร (M33) ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2556
- โมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิ Y ของวัว ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2557
- การโคลนและผลิตโปรตีนไฟโคไซยานินจากไซยาโนแบคทีเรีย ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2555
- การพัฒนาเครื่องหมายการตรวจสอบย้อนกลับปลานิลจากมทส ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2553
- การค้นหาและการแสดงออกของกลุ่มยีน Glycosyl Hydrolases ในจีโนมของข้าวหอมมะลิ ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2554
- การโคลนและผลิตเอ็นไซม์เอนโทโรไคเนสสายสั้น ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2551
- การผลิตรีคอมบิแนนท์ทรานสกลูตามิเสนจากปลานิล ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2550
- การผลิตรีคอมบิแนนท์เอนไซม์ Thermostable DNA polymerase จาก Pyrococcus furiosusในแบคทีเรีย Escherichia coli ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2550
- การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนในถังหมัก ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2549
- การแสดงออกและการผลิตเบต้ากลูโคสิเดส 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 ที่เกิดขึ้นในระดับชุมชม ประเทศ หรือนานาชาติ (Success stories and the impacts): เขียนเล่าเรื่อง อธิบาย หรือมีภาพประกอบ

งานทางด้านการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีน เริ่มจากการผลิตโปรตีนจำพวกเอ็นไซม์ เพื่อศึกษาคุณสมบัติของเอ็นไซม์ต่างๆ และใช้งานเองในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ และ ชีวเคมี รวมทั้งเพื่อสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่

จากการร่วมงานทางด้านโคลนนิ่งและสเต็มเซลล์กับ รศ.ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย ทำให้พบว่า โปรตีนจำพวกโกรทแฟคเตอร์ที่ใช้ในงานสเต็มเซลล์ต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาสูงมาก จึงได้เริ่มศึกษาที่จะผลิตโกรทแฟคเตอร์ใช้เอง เมื่อมีผลงานตีพิมพ์และไปนำเสนองานภายในและต่างประเทศ มีนักวิจัยให้ความสนใจเป็นจำนวนมาก ซึ่งปัจจุบันนี้นักวิจัย จาก ศูนย์ความเป็นเลิศทางงานวิจัยสเต็มเซลล์ คณะแพทยศาสตรศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล คณะแพทย์ศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ น าผลผลิตจากงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ เพื่อลดการนำเข้าจากต่างประเทศและลดค่าใช้จ่ายลงมาก

อีกทั้งบริษัท เมดิชสเต็มเซลล์ ได้เห็นความสำคัญและให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในการผลิต IL2 อย่างไรก็ตาม การนำไปใช้ในอุตสาหกรรมทางการแพทย์ ยังต้องมีการวิจัยและพัฒนากระบวนการผลิตโกรทแฟคเตอร์ตัวอื่นๆ ด้วยและต้องพัฒนาห้องปฏิบัติการให้เป็นระบบ GMP ด้วย

งานวิจัยทางด้านโปรตีนจากแมลงของกลุ่มวิจัยเรา ได้ถูกนำไปน าเสนอและแข่งขันในงาน Research to Market (R2M) 62 และ R2M63 งาน Food Innopolis 2018 งาน GSB startup Thailand โดยกลุ่มนักศึกษาระดับปริญญาตรี และได้รับรางวัลมาหลายรางวัล ขณะนี้กลุ่มนักศึกษาอยู่ระหว่างการจัดตั้ง บริษัท Start Up

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

6. ผลงานตีพิมพ์เชิงวิชาการ: (ในฐานข้อมูล 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'sjelly–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., 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(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:

กระบวนการแยกเพศอสุจิโคด้วยโมโนโคลนัลแอนติบอดี ที่มีความจำเพาะต่ออสุจิเพศผู้ของโค และการใช้อสุจิที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวในการปฏิสนธิในหลอดทดลอง

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

วันที่ยื่นคำขอ 27/07/55 เลขที่คำขอ 1201004011

วันที่ประกาศโฆษณา 12/01/58 เลขที่ประกาศโฆษณา 141110

ผลิตภัณฑ์โมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิเพศผู้ของโค และกระบวนการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิเพศผู้ของโคดังกล่าว

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

วันที่ยื่นคำขอ 27/07/55 เลขที่คำขอ 1201004012

วันที่ประกาศโฆษณา 21/07/56 เลขที่ประกาศโฆษณา 124729

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ศาสตราจารย์ ดร. สันติ แม้นสิริ

Name : Prof. Santi Maensiri, D.Phil. (Oxon)

Date of birth : January 31, 1973

Contact address : School of Physics, Institute of Science, Suranaree University of Technology
111 University Ave, Muang District Nakhon Ratchsima, 30000, Thailand

E-mail : santimaensiri@g.sut.ac.th; santimaensiri@gmail.com

Phone : +66-44-224188

Mobile : +66-89-8406148

Fax: +66-44-224185

Expertise : Materials science, Physics materials, Ceramic oxide composite, and Nanomaterials

Education background

2001	D.Phil. (Materials Science), University of Oxford, UK
1997	M.Sc. (Ceramic Processing), University of Leeds, UK
1995	B.Sc. (Physics), Khon Kaen University, Thailand

Work experiences

University Administrator:

2017-Present	Vice Rector for Academic Affairs and Internationalization, Suranaree University of Technology
2017-Present	Head of Academy for the Study of Science, Technology and Language Learning (Acting), Suranaree University of Technology
2017-Present	Principal of Surawiwat School (Acting), Suranaree University of Technology
2015-Present	Dean of Institute of Science, Suranaree University of technology
2012-2015	Head of School of Physics, Suranaree University of Technology

Academic/Research Related Administrator/Committee/Professional:

2018-Present	Director of Research Network NANOTEC-SUT on Advanced Nanomaterials and Characterization, Suranaree University of Technology
2017-Present	Secretary of Steering Committee for the promotion in an academic position, Suranaree University of Technology
2017-Present	Secretary of Academic Senate, Suranaree University of Technology
2016-Present	President, Materials Research Society of Thailand (MRS-Thailand)
2016-Present	Steering Committee for the promotion in an academic position, Walailak University
2016-Present	ALICE ITS Committee, NSTDA, Ministry of Science and Technology

2016-Present	Committee for System Technology, Nanoengineering, and Advanced Manufacturing, NANOTEC, NSTDA, Ministry of Science and Technology
2015-Present	Executive Board of National Metal and Materials Technology Center (MTEC)
2015-Present	Director of Center of Excellence in Advanced Functional Materials, Suranaree University of Technology
2015-Present	Member of University Council, Suranaree University of Technology
2011-Present	Member of Academic Senate, Suranaree University of Technology
2002-Present	Reviewer of journals (national journals and international journals Ex. Applied Physics Letters, Journal of Applied Physics, Crystal Growth & Design, Journal of Materials Chemistry, Journal of Physical Chemistry C, ACS Applied Materials & Interfaces, Journal of Nanoparticles Research, ChemComm, Journal of Alloys and Compounds, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, Ceramics International, Materials Research Bulletin, Solid State Sciences etc.

International conference chair (Selected) :

1) The First International Conference on Healthcare Science and Technology (ICHST 2018), The Kantary Hotel, Nakhon Ratchasima, Thailand, December 3-4, 2018 (https://indico.cern.ch/event/724988/)

2) The First Materials Research Society of Thailand International Conference (1st MRS Thailand International Conference), Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand, October 31st - November 3rd, 2017 (http://www.mrs-thailand2017.science.cmu.ac.th/)

3) The Fifth Thailand International Nanotechnology Conference (NANOTHAILAND 2017), Greenery Resort Khao Yai Hotel, Nakhon Ratchasima, Thailand, November 27-29, 2016. (https://indico.cern.ch/event/508352)

Research of interest:

Materials Physics and Nanomaterials

Nanostructured materials such as ceramic compound, metal oxide, carbon nanotube and nanocomposites

Semiconductor oxide and magnetic oxide and Magnetic Nanoparticles for Medical

Giant dielectric ceramic materials and composites

Electrospun nanofibers for electronic devices, environment, energy, and medicine

Research projects

1. Processing and Properties of Alumina-Matrix Nanocomposites. Supported by Thailand Research Fund (TRF) and The Commission on Higher education (CHE) (2002-2004). (Principal investigator)

2. Processing and Mechanical Properties of Cordierite-matrix Nanocomposites for Advanced Technical Applications. Supported by National Metal and Materials Technology Center, Thailand (2004-2005). (Principal investigator)

3. Processing and Dielectric Properties of (Li, Ti) doped NiO Ceramics for Electronic Device Applications. Supported by National Metal and Materials Technology Center, Thailand (2004-2005). (Co-investigator)

4. Development of Computer-controlled Prototype Electrospinning System for Nanofibres Fabrication. Supported by Research Division, Khon Kaen University (2004-2005) (Principal investigator)

5. Carbon Nanofibres Synthesized by Electrospinning. Supported by Thailand Toray Science Foundation. (2005-2006) (Principal investigator)

6. Synthesis and Dielectric Properties of CaCu3Ti4O12 with Giant Dielectric Permittivity for Electronic Devices Applications. Supported by Science and Technology Scholar Center, Ministry of Science and Technology. (2005-2006) (Principal investigator)

7. Development of TiO2-based Nanofiber Photo-Membrane-Reactors for Environmental Abatement. Reverse Brian Drain Project. Ministry of Science and Technology. (2006-2007) (Principal investigator)

8. Development of Computer-controlled Prototype Electrospinning System for Nanofibres Fabrication. Supported by National Research Council of Thailand (2006-2007) (Principal investigator)

9. Nano Magnetic Materials for Medical Applications. Supported by National Research Council of Thailand (2006-2008) (Co-investigator)

10. Development of Giant Dielectrics for Electronic Device Applications. Supported by Thailand Research Fund and The Commission on Higher education (CHE) (2007-2010). (Principal investigator)

11. Development of Polymer-matrix Nanocomposite Filaments for Fishing Net Industry. Supported by Thailand Research Fund (2007-2009). (Principal investigator)

12. Functional Magnetic Nanoparticles for Medical Applications. Supported by National Nanotechnology Center, NANOTEC (2008-2012) (Principal investigator)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

13. Determination of Cr, Mn, and Zr sites by X-ray absorption spectroscopy of multiferroic BiFexM1-xO3 M = Cr, Mn, Zr; x = 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4) ceramics. Supported by The Synchrotron Light Research Institute (Public Organization), Thailand. (2008-2010). (Principal investigator)

14. Development of Giant Dielectrics for Electronic Device Applications. Phase II Supported by Thailand Research Fund (2011-2013). (Principal investigator)

15. Advanced Functional Nanomaterials. NANOTEC-SUT Center of Excellence. Supported by National Nanotechnology Center (2013-2017). (Principal investigator for sub-project: Synthesis of AFM)

16. Advanced Functional Materials. TRF Senior Research Scholar. Supported by Thailand Research Fund (2013-2016). (Principal investigator)

17. Fabrication-Process Development of Prototype Supercapacitors from Biomass-Derived Carbon-Based Nanostructures. Supported by Energy Policy and Planning Office Ministry of Energy, The Ministry of Energy (2017-2018). (Principal investigator)

18. Nanomaterials and Characterization. Research Network NANOTEC-SUT. Supported by National Nanotechnology Center (2018-2021). (Project Director)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

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 เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนให้ได้มาตราฐาน

4.2 ภาคเอกชน บริษัท: ไม่มี

4.3 มหาวิทยาลัย สถาบันอื่น ๆ:

4.3.1 ร่วมวิจัยกับ รศ. นพ. กำธร พฤกษานานนท์ และนสพ. ดร. รัฐจักร รังสิวิวัฒน์ ภาควิชาสูติศาสตร์นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อทดสอบคุณสมบัติทางชีววิทยาของ basic fibroblast growth factor (bFGF) ที่ผลิตได้โดยทดสอบกับเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนมนุษย์

4.3.2 ร่วมวิจัยกับ ดร. ชุติ เหล่าธรรมธร และดร. จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ ศูนย์ความเป็นเลิศทางงานวิจัยสเต็มเซลล์ของศิริราช (SiSCR) คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล เพื่อต่อยอดการนำรีคอมบิแนนท์โปรตีนไปใช้จริงในระดับห้องปฏิบัติการ

4.3.3 ร่วมวิจัยกับ รศ. ดร. นพ. ภาคภูมิ เขียวละม้าย 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 ในการผลิตโกรทแฟคเตอร์ของมนุษย์ เพื่อใช้การศึกษาคุณสมบัติทางชีววิทยาที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ชนิดต่างๆ ประกอบกับปัจจุบันเซลล์ต้นกำเนิด (Stem cells) ถูกใช้ในการศึกษาทางการแพทย์อย่างหลากหลาย รวมถึงการศึกษาทางชีววิทยาของโรค การคิดค้นยา การบำบัดด้วยยีน และการบำบัดด้วยการแทนที่เซลล์ อย่างไรก็ตามกลไกรวมถึงการถนอมรักษาและการขยายออกของเซลล์ระยะ undifferentiated state ในหลอดทดลอง (*in vitro*) และการเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์ชนิดต่างๆ (differentiation) ในหลอดทดลอง และในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) ยังคงต้องการมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้รู้กลไกควบคุมที่ชัดเจน ก่อนที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคต่อไป สภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญของเซลล์ คือหนึ่งในตัวแปรสำคัญสำหรับงานวิจัยเซลล์ต้นกำเนิด ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดต้องการโกรทแฟคเตอร์ และไซโตไคน์เป็นตัวช่วยกระตุ้น เพื่อ ให้เกิดการเพิ่มจำนวน และชักนำให้เป็นเซลล์ชนิดต่างๆ โดยโกรทแฟคเตอร์ และไคโตไคน์ซึ่งมีราคาแพง นอกจากนี้โกรทแฟคเตอร์และไซโตไคน์เป็นโปรตีน

หลักที่มีค่าใช้จ่ายสูงในการใช้เลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ เพื่อเป็นการเชื่อมโยงและบูรณาการงานวิจัยการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนกับงานวิจัยเซลล์ต้นกำเนิด นักวิจัยได้ประสบการณ์ในการผลิตรีคอมบิแนนท์โกรทแฟคเตอร์มาแล้ว (Imsoonthornruksa et al., 2011) นอกจากนี้ยังได้รับความร่วมมือการวิจัยจากห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดในหน่วยงานต่างๆ เพื่อทดสอบและนำไปใช้ในการเติมลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ ซึ่งได้ผลการทดลองเป็นที่น่าพอใจสามารถใช้ทดแทนโกรทแฟคเตอร์ที่ซื้อจากต่างประเทศได้ ซึ่งส่งผลให้สามารถลดต้นทุนในการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดได้ 30-50% และปัจจุบันยังไม่มีหน่วยงานใดของภาครัฐ และภาคเอกชนที่สามารถผลิตโกรทแฟคเตอร์เพื่อใช้ในงานด้านเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ โดยผลิตภัณฑ์ดังกล่างจะถูกนำเข้าจากต่างประเทศ 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 jellyderived mesenchymal stem cells by using three-step protocol. **Int. J. Mol. Sci.** 20(12): 3016

Tanthaisong, P., **Imsoonthornruksa, S.**, Ngernsoungnern, A., Ngernsoungnern, 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 cytoplast 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. ทรัพย์สินทางปัญญา: ไม่มี

สพ.ญ.รังสิรัตน์ วงศ์สรรค์

1. ชื่อ: สพ.ญ.รังสิรัตน์ วงศ์สรรค์

2. สาขาวิชา สถานที่ทำงาน: ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

หมายเลขติดต่อ 044223143, 0879657540

อีเมล์ w_rangsirat@sut.ac.th

3. ความเชี่ยวชาญที่โดดเด่น:

- พ.ศ.2560 – ปัจจุบัน สัตวแพทย์ประจำ ณ สถานดำเนินการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี การศึกษาการอบรมและการสัมมนาที่เข้าร่วม

- พ.ศ.2559 สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น

- พ.ศ.2560 เข้าร่วมอบรมโครงการอบรมผู้ขอรับใบอนุญาตใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์

- พ.ศ.2560 เข้าร่วมอบรมโครงการ สัตวแพทย์ประจำ ณ สถานที่ดำเนินการ เพื่อเสริมประสบการณ์ทางด้านวิทยาศาสตร์สัตว์ทดลอง

- พ.ศ.2560 เข้าร่วมอบรมนานาชาติ หลักสูตรการพัฒนาการเลี้ยงสัตว์ทดลอง เข้าสู่ระบบปลอดเชื้อก่อโรคจำเพาะ SPF รุ่นที่ 1

- พ.ศ.2561 เข้าร่วมอบรมหลักสูตร สัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มเลี้ยงสัตว์ ประเภทโคนมและแพะนม

- พ.ศ.2561 เข้าร่วมอบรมเชิงปฏิบัติการ หลักสูตรสถิติและการวางแผนการวิจัยที่ใช้สัตว์

- พ.ศ.2562 เข้าร่วมสัมมนาเชิงปฏิบัติการ คณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของสถานที่ดำเนินการ หัวข้อ การจัดทำ SOPs การดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี