อมร แพ่งจันทึก: การพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงแบบสามมิติโดยใช้ไฮโดรเจลเพื่อรักษาคุณสมบัติความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคน์ (BIOMATERIAL HYDROGEL SUPPORTS THE 3D CULTURE SYSTEM FOR THE MAINTENANCE OF STEMNESS IN HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLSFFECT) อาจารย์ที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ ดร.ปริญญา น้อยสา, 65 หน้า.

คำสำคัญ: วัสดุทางชีวภาพ/ไฮโดรเจล/การเพาะเลี้ยงเซลล์แบบสามมิติ/เซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคน์/การคงคุณสมบัติความเป็นเซลล์ต้นกำเนิด/การสร้างหลอดเลือด

ระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบสามมิติถูกนำมาใช้เพื่อตรวจสอบเซลล์บำบัดและการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ เนื่องจากสามารถเลียนแบบการเจริญเติบโตกับเซลล์ในร่างกายได้ ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อพัฒนาวัสดุชีวภาพจากธรรมชาติ ได้แก่ อัลจิเนต กรดไฮยาลูโรนิก และเจลาติน เพื่อเลียนแบบการสร้างสภาพแวดล้อมนอกเซลล์ของเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคน์แบบสามมิติและเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ในไฮโดรเจลแบบสามมิติ อัลจิเนต-กรดไฮยาลูโรนิกไฮโดรเจลอัลแบบสามมิติถูกสร้างขึ้นสำหรับใช้เป็นระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคน์ของมนุษย์และการตรวจสอบถูกวิเคราะห์โดยการเพิ่มจำนวนเซลล์ ความมีชีวิตของเซลล์ การรักษาคุณสมบัติความเป็นเซลล์ต้นกำเนิด การกระตุ้นของเทโลเมียร์ และการสร้างเส้นเลือดใหม่เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบสองมิติ และทำการตรวจสอบคุณสมบัติของไฮโดรเจล การเพิ่มจำนวนเซลล์ การย้อมสีเซลล์ที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต การแสดงออกของยีน ความยาวสัมพัทธ์ของเทโลเมียร์ และการย้อมอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ ผลการวิจัยพบว่าอัลจิเนต- กรดไฮยาลูโรนิกไฮโดรเจลแบบสามมิติเพิ่มการเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างมีนัยสำคัญ เซลล์เจริญเติบโตเป็นเซลล์ทรงกลมที่เพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่องและมีอัตราการรอดชีวิตสูงถึงร้อยละ 77.36 หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน นอกจากนี้ แอลจิเนต-กรดไฮยาลูโรนิกไฮโดรเจลอัลแบบสามมิติยังเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการคงคุณสมบัติความเป็นเซลล์ต้นกำเนิด (*Oct-4*, *NANOG*, *SOX2* และ *SIRT1*), ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนเซลล์ (*Ki67*), ยีนกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ (*YAP* และ *TAZ*) และกระตุ้นกิจกรรมของเทโลเมียร์ในการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน นอกจากนี้ การกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดของเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคน์แบบสามมิติถูกควบคุมโดยการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหลอดเลือดใหม่ (*VEGF* และ *VCAM-1*) เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบสองมิติ ข้อมูลเหล่านี้บ่งชี้ว่าให้เห็นว่าอัลจิเนต-กรดไฮยาลูโรนิกไฮโดรเจลแบบสามมิติ สามารถทำหน้าที่เป็นตัวพาที่มีแนวโน้มในการรักษาและคงคุณสมบัติความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดและใช้ตรวจสอบเกี่ยวกับวิศวกรรมเนื้อเยื่อต่างๆ

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนักศึกษา อมร แพ่งจันทึก

ปีการศึกษา 2565 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

AMORN PANGJANTUK: BIOMATERIAL HYDROGEL SUPPORTS THE 3D CULTURE SYSTEM FOR THE MAINTENANCE OF STEMNESS IN HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. PARINYA NOISA, Ph.D., 65 PP.

Keyword: Biomaterials/Hydrogels/3D culture/Mesenchymal stem cells/Stemness/ Angiogenesis

The three-dimensional (3D) cell culture system is being employed more frequently to investigate cell engineering and tissue repair due to its close mimicry of *in vivo* cells. In this study, we developed natural biomaterials, including hyaluronic acid, alginate, and gelatin, to mimic the creation of a 3D MSCs (Mesenchymal Stem Cells) extracellular environment and selected hydrogels with high proliferation capacity for 3D MSC culture. The hydrogels were created for human mesenchymal stem cells (MSCs) culture, and an investigation was conducted into the effects on cell viability and proliferation, stemness properties, telomere activity, and angiogenesis activation compared to the 2D monolayer culture. Hydrogel characterization, cell proliferation, live/dead staining, gene expression, telomere relative length, and immunofluorescence staining were examined. The results showed that 3D alginate-hyaluronic acid (AL-HA) hydrogels increased cell proliferation, and the cells were grown as cellular spheroids with continuous culture and presented a high survival rate of 77.36% during the culture period of 14 days. Furthermore, the 3D alginate-hyaluronic acid (AL-HA) hydrogels increased the expression of stemness-related genes (*Oct-4*, *NANOG*, *SOX2*, and *SIRT1*), tissue growth genes (*YAP* and *TAZ*), and cell proliferation genes (*Ki67*) and the telomere activity after culture for 14 days. Moreover, the angiogenesis activation of the 3D MSCs was enhanced, as indicated by the upregulation of the angiogenesis related gene (*VEGF* and *VCAM-1*) compared to the 2D monolayer culture. Altogether, these data suggested that the 3D alginate-hyaluronic acid (AL-HA) hydrogels could serve as a promising carrier for maintenance stem cell properties and might be suitable for various tissue engineering proposals.

School of Biotechnology
Academic Year 2022

Student's Signature Amorn Pangjantuk
Advisor's Signature