รหัสโครงการ SUT3-304-50-24-03

รายงานการวิจัย

การผลิตและการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงแสม (*Maccaca fasicularis*)

Establishment and characterization of crab-eating monkey (*Maccaca fasicularis*) embryonic stem cell lines

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-304-50-24-03

รายงานการวิจัย

การผลิตและการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงแสม (*Maccaca fasicularis*)

Establishment and characterization of crab-eating monkey (*Maccaca fasicularis*) embryonic stem cell lines

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผศ. ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ผู้ร่วมวิจัย

ผศ. ดร. มารินา เกตุทัต-คาร์นส์

น.สพ. อนวัช แสงมาลี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2546

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

พฤศจิกายน 2553

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ Associate Professor Dr. Anthony W.S. Chan และเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์ Yerkes National Primate Research Center แห่ง Emory University Medical School สำหรับสถานที่ทำการทดลองในลิงวอก นอกจากนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.จันทร์เจ้า ล้อทองพาณิชย์ ดร.ชุติ เหล่าธรรมธร ตลอดจนสมาชิกศูนย์วิจัยเทคโนโลยีตัวอ่อนและเซลล์ต้นกำเนิดทุกท่าน เจ้าหน้าที่สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คุณปรางค์ขาว ปรุเขตต์ และขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 1 (F1) ที่ให้การสนับสนุนด้านสถานที่ในการทดลอง

....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย)

หัวหน้าโครงการวิจัย

พฤศจิกายน 2553

บทคัดย่อ

เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน ถือว่าเป็นเซลล์ที่มีศักยภาพสูงในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ต่างๆ จากสาเหตุดังกล่าวจึงทำให้มีความหวังในการใช้เซลล์ชนิดนี้เพื่อการรักษาโรคในมนุษย์ ในขณะที่การศึกษาเกี่ยวกับเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในมนุษย์ยังมีข้อจำกัดหลายประการ การพิจารณาเลือกใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากสัตว์ที่ใกล้เคียงกับมนุษย์ เช่น ลิง จึงได้รับความสนใจ ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ศึกษาการผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนจากลิงแสม และประสบความสำเร็จในการผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอก โดยทำการกระตุ้นให้ลิงผลิตไข่มากกว่าปกติแล้วเจาะดูดเก็บไข่จากรังไข่ และฉีดอสุจิเข้าสู่ไข่ (ICSI) ก่อนนำตัวอ่อนที่ได้มาทำการผลิตเซลล์ต้นกำเนิด ทั้งจากวิธี immunosurgery ในลิงแสม และ mechanical partial dissection ในลิงวอก จากการทดลองพบว่า ตัวอ่อนของลิงแสม และลิงวอก มีการเจริญเข้าสู่ระยะบลาสโตซีสคิดเป็น 14.5% และ 60% ตามลำดับ เมื่อนำตัวอ่อนดังกล่าวมาทำการผลิตเซลล์ต้นกำเนิดพบว่า ในลิงแสมจากตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสทั้งหมด 23 ตัวอ่อน สามารถแยกได้ 15 ICM (65.2 %) เพื่อนำไปผลิตเซลล์ต้นกำเนิด และพบว่ามีเพียง 10 ICMเท่านั้นที่เกาะติดจานเลี้ยงเซลล์และสร้าง outgrowth แต่เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์อื่นหมดหลังจาก passage ที่ 3 ส่วนในลิงวอก สามารถผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน ทั้งจากตัวอ่อน ICSI ได้ 2 สายพันธุ์จาก 3 ตัวอ่อนที่สร้าง outgrowth (66.7%) และตัวอ่อนที่เกิดจาก parthenogenetic activationได้ 2 สายพันธุ์ จาก 2 ตัวอ่อน ที่สร้าง outgrowth (100 %) เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนที่ได้มี alkaline phosphatase activity และสามารถแสดงออก marker ที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน ได้แก่ Oct3/4, SSEA-4, TRA-1-60, TRA-1-81 รวมไปถึงสามารถแสดงออก marker ที่จำเพาะต่อเนื้อเยื่อชั้นกลาง (vimentin) และชั้นใน (alpha-fetoprotein) เมื่อกระตุ้นให้เกิด *in vitro* differentiation ได้ ความรู้ที่ได้จากการทำการศึกษาครั้งนี้ สามารถนำมาใช้เป็นความรู้พื้นฐานเพื่อทำการศึกษาต่อยอด อันจะนำไปสู่ความสำเร็จในการประยุกต์ใช้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนเพื่อการรักษาโรคในมนุษย์ต่อไปได้ในอนาคต

Abstract

Embryonic stem cell is the cell with the unlimited differentiation ability. By this act, the use of this kind of cell in therapeutic aspect has been raised as one of the alternative treatment for human diseases. Anyway, many ethical concerns on human embryonic stem cell researching still remain and this was the off limited on this field of study. An alternative way is to use the close related species with human as a model. In this study, the crab-eating monkey and rhesus monkey were used as the model. Ovum picked-up was run on the multiple-ovulated females and the embryos were produced by intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Inner cell mass (ICM) were collected by immunosurgery protocol in crab-eating monkey and mechanical partial dissection protocol in rhesus monkey and used as the source of embryonic stem cell establishment. Blastocyst rate of crab-eating monkey and rhesus monkey were 14.5 % and 60 %, respectively. In crab-eating monkey group, total of 15 ICM (65.2%) were successfully collected (from 23 blastocyst used) and only 10 could produced outgrowths. Anyway, all of the outgrowths were disappeared after passage 3. In rhesus monkey group, the total of 2 embryonic stem cell lines (66.7%) were established from 3 ICM outgrowths in ICSI group and another 2 embryonic stem cell lines (100 %) were established from 2 ICM outgrowths in parthenogenetic activated group. All the embryonic stem cell lines showed alkaline phosphatase activity and positive expression on embryonic stem cell markers (Oct3/4, SSEA-4, TRA-1-60, TRA-1-81) and also showed the positive results on germ layer markers (vimentin for mesoderm and alpha-fetoprotein for endoderm) after induced *in vitro* differentiation. From this study, the knowledge gained could be used as the basic knowledge for human embryonic stem cell researching in order to use this kind of cell for therapeutic purposes.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ……………………………………………………………………..ก

บทคัดย่อภาษาไทย……………………………………………………………………ข

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ………………………………………………………………...ค

สารบัญ ………………………………………………………………………………...ง

สารบัญตาราง …………………………………………………………………………..ฉ

สารบัญภาพ …………………………………………………………………......................ช

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย...……………………………………….....1

1.2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง……………………..……………….................1

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย …………………..………………………………….…….2

1.4 ขอบเขตของการวิจัย ……………..…………..……………………………….……...2

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าได้รับจากการวิจัย ………..……………..……………..….…...........2

บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมไข่……………..………..………………………………..…………...4

2.2 การเตรียมน้ำเชื้อ……………..…………..…………………………….................4

2.3 การผลิตตัวอ่อนโดยการฉีดตัวอสุจิเข้าในไข่ ……………..…………..…...................4

2.4 การผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน……………..…………..…………………………....5

2.5 การตรวจสอบ immunocytochemistry ……………...………..……………………5

2.6 การทำให้เกิด *in vitro* differentiation……………..………..……………………5

บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 การผลิตและการตรวจคุณสมบัติเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงแสม......................................6

3.1.1 การเก็บไข่ของลิงแสมและการทำ ICSI………………………...................6

3.1.2 การผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงแสม……………………………….……..7

3.2. การผลิตและการตรวจคุณสมบัติเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอก.....................................9

3.2.1 การเก็บไข่ของลิงวอกและการทำ ICSI ……………………..................9

3.2.2 การผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอก……………………………………..10

3.2.3 การตรวจสอบคุณสมบัติเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกที่ผลิตได้…………..12

3.2.3.1 การตรวจสอบ immunocytochemistry ……….....…………….12

สารบัญ (ต่อ)

3.2.3.2 การทำให้เกิด *in vitro* differentiation ……………………………14
บทที่ 4 บทสรุป……………………………………………………………………………15
บรรณานุกรม ……………………………………………………………………………16
ภาคผนวก
ใบอนุญาตให้ใช้สัตว์ในงานวิจัย งานทดสอบ งานผลิตชีววัตถุและงานอื่นๆ.......................18
ใบรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการวิจัย...19
ประวัติผู้วิจัย ………………………………………………………………………………..20

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
3.1	แสดงผลการเก็บไข่จากลิงแสม และการเจริญเติบโตของตัวอ่อนหลังจากทำICSI…………	6
3.2	ผลการเลี้ยง ICM บนเซลล์พี่เลี้ยง……………………………………………………………	8
3.3	การเจริญเติบโตของตัวอ่อนลิงวอก………………………………………………………...	10
3.4	การผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกด้วยวิธี partial dissection…………………………..	11

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

3.1 การเจริญของตัวอ่อนลิงแสมในระยะต่างๆ...7
3.2 ICM outgrowth ในวันที่ 5 ของการเลี้ยง...8
3.3 ICM outgrowth ในวันที่ 12 ของการเลี้ยง..8
3.4 การใช้ micromanipulator ทำ partial dissection ตัวอ่อนลิงวอกระยะบลาสโตซีส...........11
3.5 การเจริญของ ICM ลิงวอกหลังจากแยกด้วยวิธี partial dissection แล้วเลี้ยงบนเซลล์พี่เลี้ยง...12
3.6 เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกมีการแสดงออกของ Oct3/4, SSEA4, TRA60 และ alkaline phosphatase...13
3.7 การแสดงออกของ Oct3/4, SSEA4, TRA-1-60 และ TRA-1-81 ในเซลล์ไลน์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกในกลุ่ม Parthenogenetic (PAES cell line).......................................13
3.8 การแสดงออกของ Oct3/4, SSEA4, TRA-1-60 และ TRA-1-81 ในเซลล์ไลน์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกในกลุ่ม ICSI (YRES cell line)....................13
3.9 การแสดงออกของ AFP และ Vimentin ใน EBs ที่พัฒนาจากเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกในกลุ่ม Parthenogenetic (PAES cell line) 14
3.10 การแสดงออกของ AFP และ Vimentin ใน EBs ที่พัฒนาจากเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกในกลุ่ม ICSI (YRES cell line) 14

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน (Embryonic Stem Cell; ES Cell) เป็นเซลล์ที่เกิดจากตัวอ่อนระยะก่อนฝังตัวซึ่งเป็นเซลล์ที่สามารถเจริญไปเป็นเซลล์ได้ทุกชนิดของร่างกาย ด้วยศักยภาพนี้ เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนจึงกำลังเป็นที่สนใจอย่างมากสำหรับนักวิทยาศาสตร์ในปัจจุบันโดยเฉพาะในเรื่องเกี่ยวกับทางการแพทย์เนื่องจากจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้รักษาผู้ป่วยโดยการรักษาด้วยเซลล์ (cell therapy) สำหรับมนุษย์ได้ แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาในตัวอ่อนมนุษย์ ยังมีปัญหาอยู่มากโดยเฉพาะในเรื่องของจริยธรรม ดังนั้นการศึกษาในสัตว์ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับมนุษย์ เช่น ลิง เพื่อศึกษาถึงวิธีที่น่าจะเป็นไปได้มากที่สุด และเหมาะสมที่สุดสำหรับมนุษย์ จึงเป็นทางเลือกที่ดีกว่าการทดลองในตัวอ่อนมนุษย์โดยตรงในสถานการณ์ที่การทดลองในตัวอ่อนมนุษย์ยังไม่เป็นที่ยอมรับดังเช่นในปัจจุบัน ดังนั้นลิงจึงเป็นสัตว์ทดลองที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งเพราะนอกจากจะมีลักษณะทางพันธุกรรม คล้ายกับมนุษย์แล้ว ยังมีลักษณะการเกิดโรคบางอย่างที่สลับซับซ้อนเช่นเดียวกับมนุษย์ เช่น โรคเกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ โรคความผิดปกติของระบบประสาท เป็นต้น ซึ่งสัตว์ทดลองชนิดอื่น เช่น หนู ไม่มีความซับซ้อนในการเกิดโรคเท่ากับลิง ดังนั้นลิงจึงเป็นสัตว์ทดลองที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองเกี่ยวกับมนุษย์

เนื่องจากเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนสามารถถูกกระตุ้นและควบคุมให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์เป้าหมายที่ต้องการได้ด้วยขบวนการในหลอดทดลองจึงเป็นเซลล์ที่มีประโยชน์และเป็นที่ต้องการของนักวิทยาศาสตร์เพื่อใช้ศึกษาคุณสมบัติของเซลล์หลายๆ ชนิด ดังนั้นการทดลองเพื่อจะผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนจากลิงแสมเพื่อผลิตเป็นเซลล์ต้นกำเนิดที่พร้อมใช้งานเพื่อจำหน่ายให้แก่นักวิจัยที่สนใจจึงเป็นสิ่งที่มีประโยชน์ต่อนักวิทยาศาสตร์หลายๆ วงการ เช่น นักชีววิทยา เภสัชกร แพทย์ อาจารย์ หรือนักวิชาการที่สนใจทั่วไปและเนื่องจากลิงแสมเป็นลิงที่มีอยู่มากในประเทศไทยจึงเป็นสิ่งที่มีความเป็นไปได้สูง โดยเฉพาะเมื่อทำการทดลองโดยนักวิจัยที่มีประสบการณ์และมีความชำนาญในการผลิตเซลล์ต้นกำเนิดจากสัตว์มาก่อนจึงทำให้สมมุติฐานที่จะผลิตเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนลิงแสมจึงมีความเป็นไปได้สูง

1.2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

นักวิทยาศาสตร์ประสบความสำเร็จในการผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในหนูถีบจักรได้เป็นชนิดแรก (Martin, 1981; Evan และ Kaufman, 1981) ปัจจุบันสามารถผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนใน

ลิงวอก (Thomson และคณะ, 1995) marmoset (Thomson และคณะ, 1996) และในคน (Thomson และคณะ, 1998; Reubinoff และคณะ, 2000) การศึกษาเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนเป็นสิ่งที่กำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมากเนื่องจากจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้รักษาผู้ป่วยโดยการรักษาด้วยเซลล์ เช่น ผลิตเซลล์เบต้า (beta cell) ที่สร้างฮอร์โมนอินซูลิน เพื่อใช้รักษาคนเป็นโรคเบาหวาน ผลิตเซลล์หัวใจเพื่อรักษาคนเป็นโรคหัวใจ ผลิตเซลล์ตับเพื่อรักษาโรคตับ ผลิตเซลล์ประสาทในสมอง (Dopaminergic neuron) ที่สามารถสร้างสารโดพามีน (Dopamine) เพื่อรักษาคนเป็นโรคพาร์กินสัน (Parkinson) เป็นต้น (Dowell และคณะ, 2003; Lumelsky, และคณะ, 2001; Nir และคณะ. 2003; Passier และ Mummery, 2003; van der Heyden และคณะ, 2000; Yang และคณะ, 2002; Freed, 2002.) การทำโคลนนิ่งเพื่อการรักษา (therapeutic cloning) จะสามารถแก้ปัญหาร่างกายผู้ป่วยต่อต้านเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ใช้รักษา เพราะเราจะนำเซลล์ร่างกายของผู้ป่วยมาทำโคลนนิ่งเพื่อให้ได้ตัวอ่อนระยะ บลาสโตซีส แล้วแยก inner cell mass (ICM) cell ไปเลี้ยงเพื่อให้ได้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนที่มีพันธุกรรมเหมือนผู้ป่วยทุกประการจากนั้นจะทำการควบคุมให้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์เป้าหมายที่ต้องการได้ด้วยขบวนการทำในหลอดทดลอง

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.3.1 เพื่อผลิตตัวอ่อนลิงแสมจากการฉีดตัวอสุจิเข้าในไข่

1.3.2 เพื่อผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในลิงแสม

1.3.3 เพื่อตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนที่ผลิตได้

1.3.4 เพื่อให้มีเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงแสมที่เพียงพอที่จะใช้ในห้องปฏิบัติการต่างๆในประเทศไทย

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การทดลองจะเก็บไข่จากลิงแสมด้วยวิธีผ่าตัดหน้าท้อง และ Laparoscopic Ovum Pick Up แล้วนำมาผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนโดยวิธีฉีดอสุจิเข้าไปในไข่ เพื่อศึกษาความสามารถในการเจริญเป็นเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนนอกจากนี้ยังศึกษาความแตกต่างทางกายภาพและคุณสมบัติต่างๆ ของเซลล์ต้นกำเนิดที่ผลิตได้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1.5.1 ได้เทคนิคการสกัด และเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดลิงแสมในหลอดทดลอง

1.5.2 สามารถถ่ายทอดเทคนิคต่างๆ ที่ใช้ในการวิจัยให้แก่นักวิจัยหรือบุคคลทั่วไปที่สนใจได้

1.5.3 สามารถนำเทคนิคที่ได้มาผลิตเป็นเชิงพาณิชย์ได้เช่นผลิตเซลล์ต้นกำเนิดที่มีคุณสมบัติเฉพาะที่แตกต่างกัน ตามความต้องการของลูกค้า ซึ่งเป็นธุรกิจที่มีการดำเนินงานกันอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ โดยเฉพาะในวงการแพทย์ และการวิจัย

บทที่ 2
วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมไข่

หลังจากลิงมีประจำเดือน 3 วัน จะกระตุ้นให้มีการเจริญของฟอลลิเคิลมากๆ โดยการฉีดฮอร์โมน recombinant follicle stimulating hormone (rFSH) 30 IU เข้ากล้ามเนื้อวันละ 2 ครั้งเป็นเวลา 6 วัน และควบคู่กันไปจะฉีดฮอร์โมน gonadotropin releasing hormone (GnRH) antagonist 0.5 มก./กก วันละครั้ง หลังจากนี้จะ ฉีดฮอร์โมน rFSH + recombinant luteinizing hormone (rLH) อย่างละ 30 IU เข้ากล้ามเนื้อวันละ 2 ครั้งเป็นเวลา 1, 2 หรือ 3 วัน หลังจากฉีดฮอร์โมน 7 วัน จะใช้อัลตราซาวด์ตรวจสอบฟอลลิเคิลในรังไข่ ถ้าฟอลลิเคิลมีเส้นผ่าศูนย์กลาง $\geq$ 4 มม. จะฉีดฮอร์โมน rHCG 1,000 IU เข้ากล้าม หลังจากฉีด rHCG 27 ชั่วโมงจะทำการเก็บไข่โดยวางยาสลบและทำการผ่าตัดหน้าท้องเพื่อเจาะดูดไข่จากรังไข่ นำไข่ที่เก็บได้ไว้ในน้ำยา TALP-HEPES ที่เติมด้วย 0.3% bovine serum albumin (BSA) หลังจากนั้นจะย่อยเซลล์คิวมูลัสออกด้วยการนำไข่ไปไว้ในน้ำยา TALP-HEPES ที่มี 0.1% hyaluronidase แล้วใช้ปิเปตที่ยืดให้มีขนาดเล็กดูดไข่ขึ้นลงหลายๆครั้ง จากนั้นคัดเลือกไข่ที่สุกแล้ว (มี 1^{st} polar body) ไปเก็บไว้ในน้ำยา CMRL (Invitrogen) ที่เติมด้วย 10% FCS ในตู้อบอุณหภูมิ 37 °C ภายใต้ 5% CO_2 in air จนกว่าจะนำไปใช้

2.2 การเตรียมน้ำเชื้อ

ทำการเก็บน้ำเชื้อจากลิงเพศผู้โดยใช้เครื่อง Electro ejaculator นำน้ำเชื้อที่ได้ไปทำน้ำเชื้อแช่แข็งตามวิธีการของ Sankai และคณะ (1994) ก่อนใช้จะนำหลอดเก็บน้ำเชื้อไปไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C แล้วนำน้ำเชื้อไปปั่นแยกด้วย 2 ml 90% percoll ที่ 800 g นาน 10 นาที หลังจากนั้นนำน้ำเชื้อไปล้าง 2 ครั้ง ด้วย TALP-HEPES ที่เติมด้วย 0.3% BSA (TALP-HEPES-BSA) แล้วละลายใน TALP-HEPES-BSA แล้วเก็บในตู้อบอุณหภูมิ 37 °C ภายใต้ 5% CO_2 in air จนกว่าจะนำไปใช้

2.3 การผลิตตัวอ่อนโดยการฉีดตัวอสุจิเข้าในไข่ (Intracytoplasmic sperm injection; ICSI)

นำไข่ไว้ใน 10 µl น้ำยา TALP-HEPES-BSA แล้วนำตัวอสุจิมาละลาย 1:50 ใน 10% PVP เพื่อทำให้เคลื่อนไหวช้าลง ใช้ micromanipulator ดูดจับไข่ไว้โดยให้ 1^{st} polar body อยู่ที่ตำแหน่ง 12 นาฬิกา แล้วดูดตัวอสุจิ 1 ตัวเข้าไปในเข็มที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-6 µm โดยให้ส่วนหางเข้าก่อน แล้วฉีดตัวอสุจิเข้าไปในไซโตพลาสซึมของไข่ หลังจากทำ ICSI เสร็จแล้วจะนำไข่ไปเลี้ยงในน้ำยา

CMRL-FCS ในตู้อบอุณหภูมิ 37 °C ภายใต้ 5% CO_2 5% O_2 และ 90% N_2 นาน 7 วัน โดยจะเปลี่ยนน้ำยาทุกๆ 2 วัน

2.4 การผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน

นำตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสที่ได้จากการทำ ICSI มาย่อยชั้น zona pellucida ออกด้วยการนำตัวอ่อนไปไว้ใน 0.5% pronase นาน 4-5 นาที จากนั้นนำตัวอ่อนไปแยก ICM ออกโดยวิธี immunosurgery (Solter และ Knowles, 1975) นำ ICM ที่แยกได้ไปเลี้ยงในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน 100 μl บน mouse embryonic fibroblasts (MEF) ที่ผ่านการเลี้ยงในน้ำยาที่มี mitomycin C 10 μg/ml มาแล้ว 3 ชั่วโมง น้ำยาเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนประกอบด้วย 80% Dulbecco's modified Eagle medium (มี glucose 4,500 mg/l, 2 mM glutamine, ไม่มี pyruvic acid, Invitrogen) 20% FCS, 0.1 mM 2-mercaptoethanol, 1% nonessential amino acid stock และ 4 ng/ml human basic fibroblast growth factor (bFGF; Chemicon, Inc.) จะเลี้ยง ICM นาน 12-15 วัน โดยเปลี่ยนน้ำยาทุกๆ 2 วัน

ใช้ plasture pipette ที่ยืดให้มีขนาดเล็กแยกเซลล์ที่เจริญออกจาก ICM และดูดขึ้นลงหลายๆ ครั้งเพื่อให้เซลล์แยกออกเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำมาเลี้ยงใหม่ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน 100 μl บน MEF หลังจากเลี้ยง 7 วันจะ passage เซลล์ที่เจริญขึ้นมาใหม่โดยใช้ pasture pipette ที่ยืดให้มีขนาดเล็กแล้วเลี้ยงบน MEF ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน 2 ml ในจานเลี้ยงเซลล์ขนาด 35 mm ทำการ passage เซลล์ต้นตัวอ่อนที่ได้นี้ทุกๆสัปดาห์จนถึง passage ที่ 5 แล้วนำเซลล์ส่วนหนึ่งไปแช่แข็งไว้ในไนโตรเจนเหลว ส่วนเซลล์ที่เหลือจะเลี้ยงต่อไปเป็นเวลาอย่างน้อย 6 เดือน

2.5 การตรวจสอบ immunocytochemistry

ตรวจสอบ alkaline phosphatase activity โดยการนำเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนไว้ใน Triton X-100 ที่อุณหภูมิ 20 °C นาน 20 นาที แล้วย้อมด้วย NBT/BCIP (Roche Molecular Biochemicals) ตรวจสอบด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะกับแอนติเจนที่พบในเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนทั้งในนิวเคลียสและบนผิวเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ Oct3/4, TRA-1-60, TRA-1-81

2.6 การทำให้เกิด *in vitro* differentiation

นำเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนเลี้ยงใน bacteria disc ที่ไม่มี MEF และน้ำยาไม่มี bFGF เป็นเวลา 8-10 วัน เพื่อดูการเกิด embryoid bodies (EBs)

บทที่ 3
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

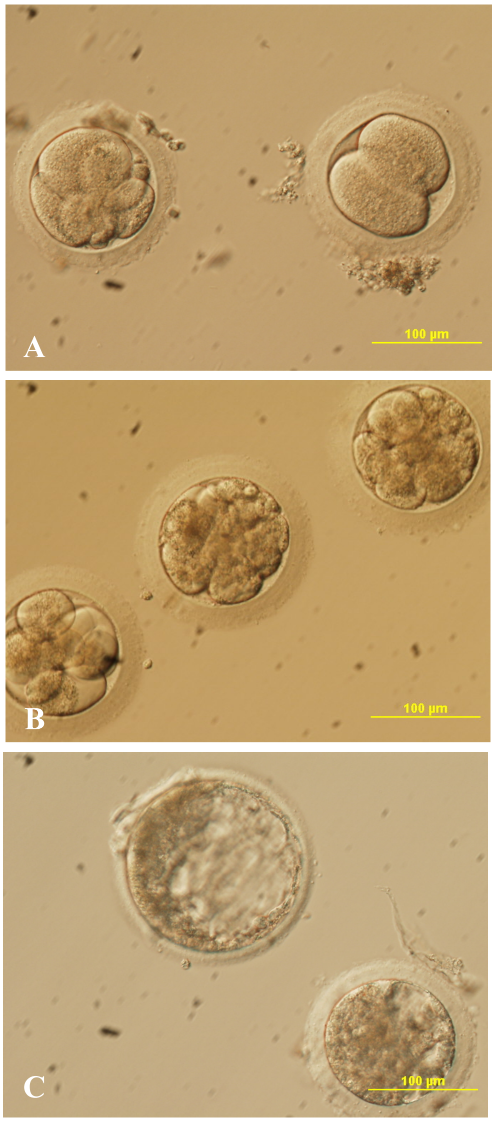
3.1 การผลิตและการตรวจคุณสมบัติเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงแสม

3.1.1 การเก็บไข่ของลิงแสมและการทำ ICSI

จากตารางที่ 3.1 ได้เก็บไข่จากลิงทั้งหมด 15 ตัว ได้ไข่ทั้งหมด 319 ใบ เป็นระยะ MII 193 ใบ (60.8%) แล้วคัดเลือกไข่ที่มีคุณภาพดีไปทำ ICSI 159 ใบ (82.0%) จากจำนวนนี้มีไข่ที่มี 2 PN (มี male และ female pronuclei) 99 ใบ (62.3%) และเจริญเติบโตจนถึงระยะ 8 เซลล์ 57 ใบ (35.8%, ภาพที่ 3.1A) ระยะมอรูลา 45 ใบ (28.3%, ภาพที่ 3.1B) และระยะบลาสโตซีส 23 ใบ (14.5%, ภาพที่ 3.1C)

ตารางที่ 3.1 แสดงผลการเก็บไข่จากลิงแสม และการเจริญเติบโตของตัวอ่อนหลังจากทำ ICSI

Animal No.	No. recovered oocytes	No. MII oocytes	No. ICSI	2 PN (%)	Cleavage (%)	8 cell at D2 (%)	Morula at D5 (%)	Blastocyst at D7 (%)
1	22	7	7	1	0	0	0	0
2	21	7	5	2	2	1	0	0
3	25	15	13	5	3	2	2	0
4	24	17	14	8	5	4	4	2
5	19	12	11	7	5	4	3	2
6	27	18	14	9	7	6	5	3
7	29	20	15	11	9	7	6	4
8	18	10	9	7	5	3	2	1
9	20	12	10	8	6	5	3	1
10	21	16	13	8	7	5	4	2
11	23	17	15	12	10	7	5	3
12	14	8	6	3	2	2	1	0
13	16	10	8	5	4	3	3	1
14	15	9	7	5	4	3	3	1
15	25	16	12	8	6	5	4	3
Total	**319**	**194/319 (60.8%)**	**159/194 (82.0%)**	**99/159 (62.3%)**	**75/159 (47.2%)**	**57/159 (35.8%)**	**45/159 (28.3%)**	**23/159 (14.5%)**



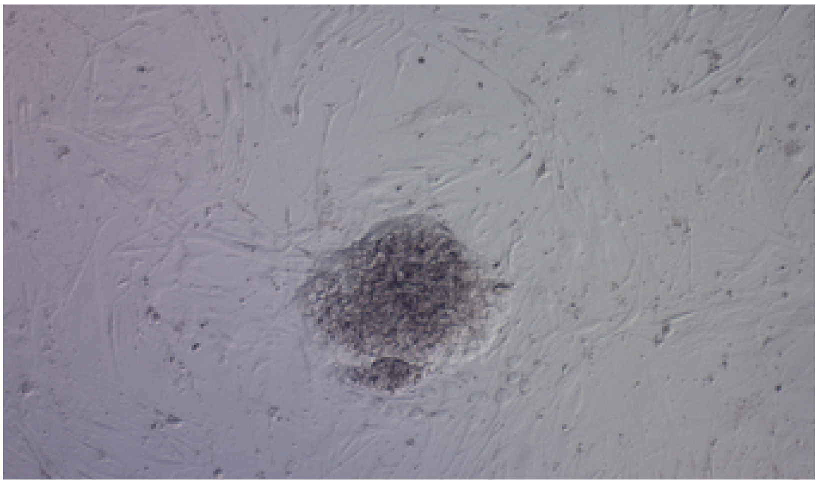
ภาพที่ 3.1 การเจริญของตัวอ่อนลิงแสมในระยะต่างๆ (A) ระยะ 2 เซลล์ และระยะ 4 เซลล์ (B) ระยะ 8 เซลล์ และระยะมอรูลา (C) ระยะบลาสโตซีส

3.1.2 การผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงแสม

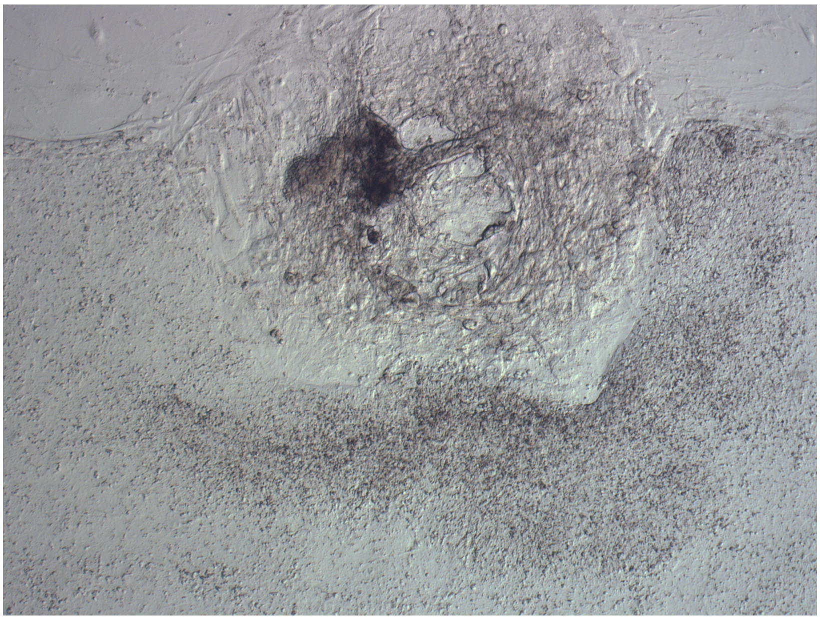
จากการนำตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส 23 ใบมาทำ immunosergery เพื่อแยก ICM ออกจาก trophectoderm สามารถแยก ICM ได้ทั้งหมด 15 ใบ คิดเป็น 65.2% จากนั้นนำ ICM ไปเลี้ยงบนเซลล์พี่เลี้ยง ด้วยน้ำยาเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน ในจำนวนนี้มี 10 ICM ที่เกาะติดเซลล์พี่เลี้ยงในวันที่ 2 ของการเลี้ยง (ภาพที่ 3.2) หลังจากเลี้ยงได้ 5 วันเริ่มเห็น ICM มีการเจริญขึ้นมา และในวันที่ 12 ของการเลี้ยงจะเห็น outgrowth ใหญ่ขึ้น (ภาพที่ 3.3) อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการ passage ครั้งที่ 3 เซลล์ต้นกำเนิด ตัวอ่อนลิงแสมที่ได้จาก outgrowth ของ ICM ได้เปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ชนิดอื่น ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ผลการเลี้ยง ICM บนเซลล์พี่เลี้ยง

	จำนวน (%)
ICM เข้าเลี้ยง	15 (100)
ICM outgrowth	10/15 (66)
ทำ passage 1	5/10 (50)
ทำ passage 2	2/5 (40)
ทำ passage 3	0/2 (0)



ภาพที่ 3.2 ICM outgrowth ในวันที่ 2 ของการเลี้ยง (100x)



ภาพที่ 3.3 ICM outgrowth ในวันที่ 12 ของการเลี้ยง (100x)

3.2 การผลิตและการตรวจคุณสมบัติเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอก

3.2.1 การเก็บไข่ของลิงวอกและการทำ ICSI

จากการทดลองที่ 3.1 ไม่สามารถผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงแสมได้ และมีข้อจำกัดเรื่องจำนวนลิงที่ใช้ในการทดลอง จึงได้ร่วมมือกับ Dr. A.W.S. Chan ซึ่งทำงานอยู่ ณ Yerkes National Primate Research Center, Emory University Medical School เมืองแอตแลนต้า สหรัฐอเมริกา เพื่อทำการทดลองผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอก (Rhesus monkey, *Maccaca mulatta)* เนื่องจากมีศูนย์เลี้ยงลิงที่มีมาตรฐาน โดยได้ให้นายชุติ เหล่าธรรมธร นักศึกษาปริญญาเอก เป็นผู้ทำการทดลองร่วมกับ Dr. A.W.S. Chan ซึ่งทำการทดลองดังนี้

หลังจากกระตุ้นให้ลิงวอกผลิตไข่จำนวนมากแล้ว ได้ทำการเก็บไข่โดยวิธี laparoscopy จากลิงทั้งหมด 10 ตัว ได้ไข่ทั้งหมด 266 ใบ ในจำนวนนี้เป็นระยะ MII 144 ใบ (54.1%) ได้แบ่งไข่ระยะ MII ส่วนหนึ่งไปทำ ICSI และทำการกระตุ้นให้แบ่งตัวโดยวิธี parthenogenetic activation (PA) เพื่อศึกษาอัตราการเจริญของตัวอ่อน ผลที่ได้คือตัวอ่อนที่ได้จาก ICSI และ PA มีความสามารถเจริญเติบโตถึงระยะบลาสโตซีส ไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3.3

ส่วนไข่ระยะ MII ที่เหลือนำไปทำ ICSI เพื่อย้ายฝาก โดยฝากที่ระยะ 8 เซลล์ ดังนั้นจึงไม่สามารถเก็บผลการเจริญเติบโตได้ สำหรับผลย้ายฝากทางอเมริกาไม่สามารถเปิดเผยข้อมูลได้จนกว่าจะตีพิมพ์ผลการวิจัย

ตารางที่ 3.3 การเจริญเติบโตของตัวอ่อนลิงวอก

Treatment	No. ICSI	2PN	Culture	Cleavage	8-C	Mor	ComMor	Blast
ICSI	4	4	4	4	4	3	3	3
	5	5	5	5	5	5	5	3
	5	5	5	5	4	2	2	2
	7	6	6	6	6	4	4	4
Total	**21**	**20**	**20**	**20 (100.0%)[a]**	**19 (95.0%)[a]**	**14 (70.0%)[ab]**	**14 (70.0%)[a]**	**12 (60.0%)[a]**
PA	-	-	4	4	4	4	3	3
			6	6	5	4	4	3
			4	3	3	3	3	3
			1	1	1	1	1	1
			4	4	4	4	4	2
Total	**-**	**-**	**19**	**18 (94.7%)[a]**	**17 (89.5%)[a]**	**16 (84.2%)[a]**	**15 (78.9%)[a]**	**12 (63.2%)[a]**

[a,b] indicate significant difference between column at $P<0.05$

PA: Parthenogenetic activation

ICSI: Intracytoplasmic sperm injection

3.2.2 การผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอก

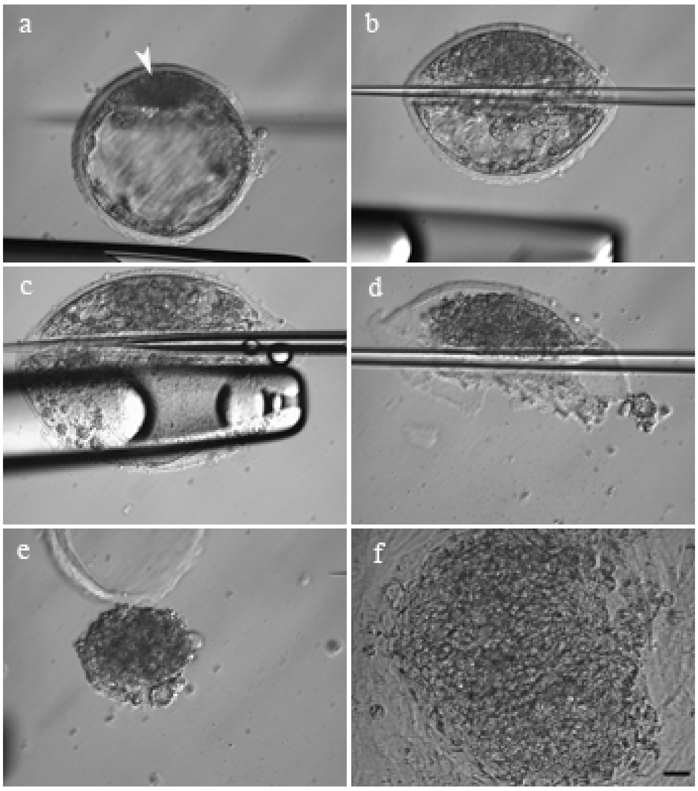
จากการทดลองที่ 3.1 ได้นำตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสไปทำ immunosurgery เพื่อแยก ICM เลี้ยงบนเซลล์พี่เลี้ยง แล้วไม่สามารถผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนได้ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงนำตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสไปทำ partial dissection เพื่อแยก ICM ออกมาเลี้ยงบนเซลล์พี่เลี้ยงในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน ซึ่งสามารถผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกจากตัวอ่อน PA จำนวน 2 สายพันธุ์ และจากตัวอ่อน ICSI จำนวน 2 สายพันธุ์ (ตารางที่ 3.4, ภาพที่ 3.4, ภาพที่ 3.5)

ตารางที่ 3.4 การผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกด้วยวิธี partial dissection

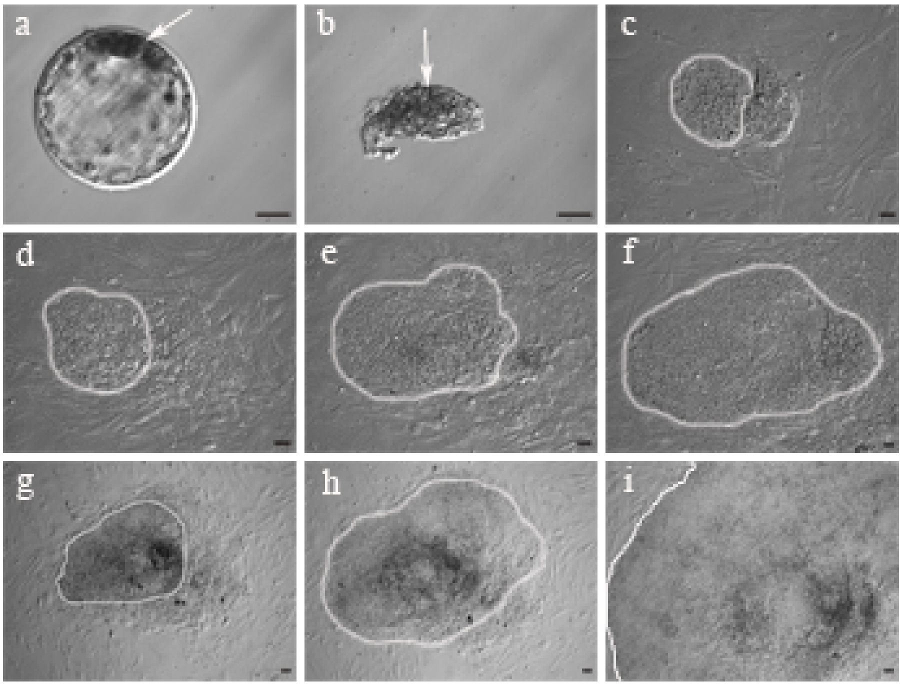
Source of Embryo	No. culture	No. (%) attached on feeder	No. (%) outgrowth	Passage number	
				1-5 (%)	> 5 (%)
PA	5	4 (80)	2 (50)	2 (100)	2 (100)
ICSI	4	3 (75)	3 (100)	2 (66.7)	2 (66.7)

PA: Parthenogenetic activation

ICSI: Intracytoplasmic sperm injection



ภาพที่ 3.4 การใช้ micromanipulator ทำ partial dissection ตัวอ่อนลิงวอกระยะบลาสโตซีส (a) ICM (หัวลูกศร) ถูกจัดให้อยู่ในจำแหน่ง 12 นาฬิกา (b) ใช้เข็มแก้วขนาดเล็กวางบนตัวอ่อน (c) ใช้เข็มแก้วกดลงและถูไปมาเพื่อให้ชั้น zona pellucida และเซลล์ trophectoderm ขาดออก (d , e) เขี่ยให้ ICM ออกมาจากชั้น zona pellucida (f) ICM outgrowth หลังจากเลี้ยงบนเซลล์พี่เลี้ยงนาน 4 วัน Scale bar: 20 μm.

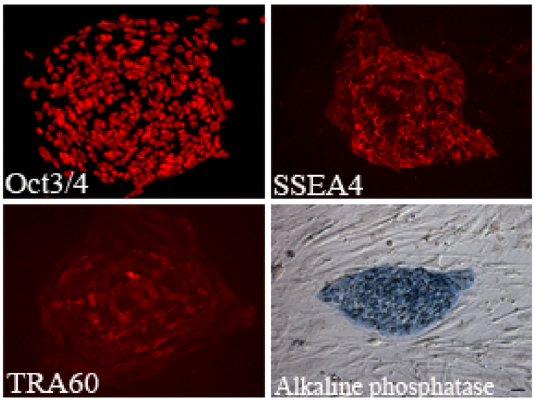


ภาพที่ 3.5 การเจริญของ ICM ลิงวอกหลังจากแยกด้วยวิธี partial dissection แล้วเลี้ยงบนเซลล์พี่เลี้ยง (a) ตัวอ่อนระยะ Expanded blastocyst ซึ่งมองเห็น ICM clump (ลูกศร) (b) ICM clump หลังจากทำ partial dissection (c) ICM outgrowth ในวันที่ 4 ของการเลี้ยง ซึ่งอยู่ในบริเวณที่ทำเส้นสีขาว (d) วันที่ 5 ของการเลี้ยง (e) วันที่ 6 ของการเลี้ยง (f) วันที่ 7 ของการเลี้ยง (g) วันที่ 8 ของการเลี้ยง (h) วันที่ 9 ของการเลี้ยง และ (i) วันที่ 9 ของการเลี้ยง Scale bar: 20 µm

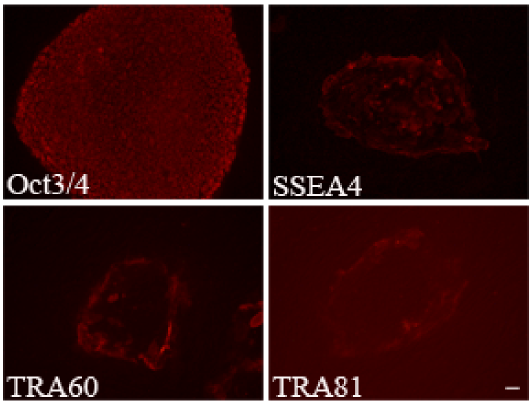
3.2.3 การตรวจสอบคุณสมบัติเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกที่ผลิตได้

3.2.3.1 การตรวจสอบ immunocytochemistry

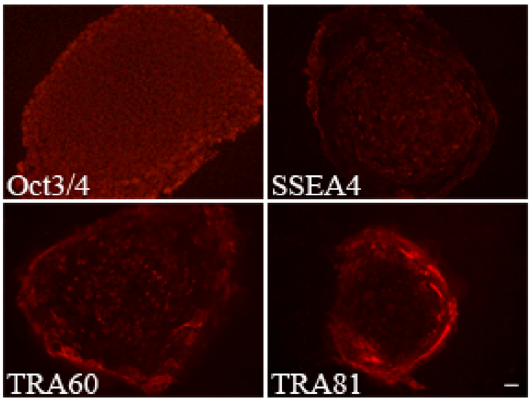
เซลล์ต้นกำเนิดลิงวอกมีการแสดงออกของ alkaline phosphatase (ALP) activity (ภาพที่ 3.6) เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกที่ผลิตได้ทั้งจากกลุ่ม parthenogenetic (PAES) และกลุ่ม ICSI (YRES) สามารถแสดงออก marker ที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน (ภาพที่ 3.7 และ 3.8) ได้แก่ Oct3/4, SSEA-4, TRA-1-60, TRA-1-81 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกมีการแสดงออกของแอนติเจนบนผิวเซลล์และในนิวเคลียสที่คล้ายคลึงกับเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนมนุษย์ (hESCs)



ภาพที่ 3.6 เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกมีการแสดงออกของ Oct3/4, SSEA4, TRA60 และ alkaline phosphatase Scale bar: 20 µm



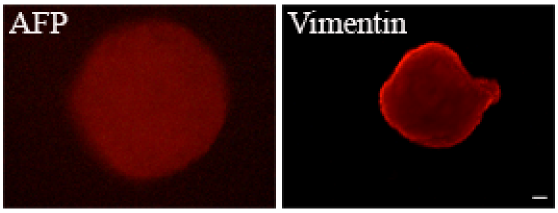
ภาพที่ 3.7 การแสดงออกของ Oct3/4, SSEA4, TRA-1-60 และ TRA-1-81 ในเซลล์ไลน์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกในกลุ่ม Parthenogenetic (PAES cell line) Scale bar: 20 µm



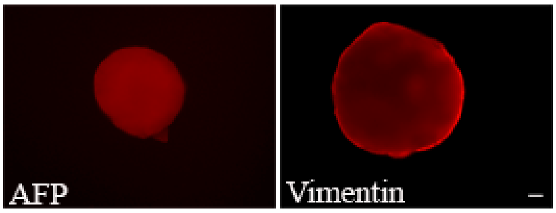
ภาพที่ 3.8 การแสดงออกของ Oct3/4, SSEA4, TRA-1-60 และ TRA-1-81 ในเซลล์ไลน์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกในกลุ่ม ICSI (YRES cell line) Scale bar: 20 µm

3.2.3.2 การทำให้เกิด *in vitro* differentiation

เมื่อนำเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนเลี้ยงใน bacteria disc ที่ไม่มี MEF และน้ำยาไม่มี bFGF เป็นเวลา 8-10 วัน เซลล์ดังกล่าวควรพัฒนาและเกิดเป็น embryoid bodies (EBs) ซึ่งหมายถึง ความสามารถในการเจริญเป็นเนื้อเยื่อ 3 ชั้น คือ เนื้อเยื่อชั้นนอก (ectoderm) เนื้อเยื่อชั้นกลาง (mesoderm) และเนื้อเยื่อชั้นใน (endoderm) ภายในหลอดทดลองได้ ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกที่ผลิตได้ทั้งจากกลุ่ม parthenogenetic (PAES) และกลุ่ม ICSI (YRES) สามารถพัฒนาเป็น EBs และเมื่อทำการย้อมสีด้วยเทคนิค immunocytochemistry ต่อ alpha-fetoprotein (AFP) ซึ่งพบในเนื้อเยื่อชั้นในและ vimentin ซึ่งพบในเนื้อเยื่อชั้นกลาง (ภาพที่ 3.9 และ 3.10) พบว่า EBs จากทั้งสองกลุ่มมีการแสดงออกของโปรตีนทั้งสองชนิด แสดงให้เห็นว่า มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ได้หลายชนิด



ภาพที่ 3.9 การแสดงออกของ AFP และ Vimentin ใน EBs ที่พัฒนาจากเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกในกลุ่ม Parthenogenetic (PAES cell line) Scale bar: 20 μm



ภาพที่ 3.10 การแสดงออกของ AFP และ Vimentin ใน EBs ที่พัฒนาจากเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกในกลุ่ม ICSI (YRES cell line) Scale bar: 20 μm

.

บทที่ 4
บทสรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาครั้งนี้ สามารถผลิตตัวอ่อนของทั้งลิงแสม และลิงวอก (ที่ได้รับการศึกษาต่อเนื่องมาจากการที่ไม่สามารถผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของลิงแสมได้) สำเร็จด้วยวิธี ICSI รวมทั้งสามารถผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนจากตัวอ่อนของลิงวอกได้สำเร็จ ส่วนในกรณีลิงแสมนั้นไม่สามารถผลิตได้สำเร็จ แม้จะประสบความสำเร็จจากการแยก outgrowth มาทำการเลี้ยงในเบื้องต้นแล้วก็ตาม กรณีดังกล่าว อาจเนื่องมาจากผลจากวิธีการแยก ICM ที่ใช้ทำการผลิตที่ต่างกัน รวมถึงปัจจัยเฉพาะทางสายพันธุ์ที่ต่างกัน (species specific variation) นับถึงปัจจุบันมีเพียง Suemori และคณะ (2001) เพียงทีมเดียวที่ประสบความสำเร็จในการผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงแสมได้ 4 สายพันธุ์จาก 32 ICM ที่นำเข้าเลี้ยง คิดเป็นอัตราความสำเร็จ 12.5% สำหรับเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนจากลิงวอกที่ทำการผลิตได้ สามารถแสดงออกถึง marker ที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนได้ และรวมไปถึงมีศักยภาพที่สามารถได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์เป้าหมายชนิดต่างๆได้ เนื่องจากสามารถแสดงออกถึง marker ที่จำเพาะต่อเนื้อเยื่อ 3 ชั้นของร่างกายภายหลังจากขั้นตอนของ *in vitro* differentiation ผ่าน embryoid body จากผลการทดลองดังกล่าว สรุปได้ว่าสามารถผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนจากตัวอ่อนของลิงที่ได้จากวิธี ICSI ได้ โดยเซลล์ต้นกำเนิดดังกล่าว สามารถนำมาใช้เป็นต้นแบบในการศึกษาของเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ ซึ่งจะสามารถต่อยอดองค์ความรู้ในการใช้เซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ทางการแพทย์ต่อไปได้ในอนาคต

ในการทดลองต่อไปควรมีการนำเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกเหล่านี้ไปเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์ชนิดต่างๆ เช่น เซลล์ประสาท เซลล์ตับ และเซลล์เบต้า เป็นต้น

บรรณานุกรม

Evan, M.J. and Kaufman, M.H. 1981. Establishment in culture of pluripotent stem cells from mouse embryos. *Nature* 292: 154-156.

Freed, C.R. 2002. Will embryonic stem cells be a useful source of dopamine neurons for transplantat into patients with Parkinson's disease? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99: 1755-1757.

Lumelsky, N., Blondel, O. and Laeng, P. 2001. Differentiation of embryonic stem cells to insulin-secreting structures similar to pancreatic islets. *Science* 292: 1389-1394.

Martin, G.R. 1981. Isolation of pluripotent cell lines from early mouse embryo cultured in medium conditioned to teratocarcinoma stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 78: 7634-7638.

Nir, S.G., David, R., Zaruba, M., Franz, W-M. and Itskovitz-Eldor, J. 2003. Human embryonic stem cells for cardiovascular repair. *Cardiovasc. Res.* 58: 313-323.

Passier, R. and Mummery. 2003. Origin and use of embryonic and adult stem cells in differentiation and tissue repair. *Cardiovasc. Res.* 58: 324-335.

Reubinoff, B.E., Pera, M.F., Fonf, C.Y. Trounson, A. and Bongso, A. 2000. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation *in vitro*. *Nat. Biotechnol.* 18: 399-404.

Suemori, H., Tada, T., Torii, R., Hosoi, Y., Kobayashi, K., Imahie, H., Kondo, Y., Iritani, A. and Nakatsuji, N. 2001. Establishment of embryonic stem cell lines from Cynomolgus monkey blstocysts produced by IVF or ICSI. *Dev. Dyn.* 222: 273-279.

Thomson, J.A., Itskovitz-Eldor, J. Shapiro, S.S., Waknitz, M.A., Sweiergiel, J.J., Marshall, V.S. and Jones, J.M. 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282: 1145-1147.

Thomson, J.A., Kalishman, J., Golos, T.G., Durning, M., Harris, C.P., Becker, R.A. and Hearn, J.P. 1995. Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92: 7844-7848.

Thomson, J.A., Kalishman, J., Golos, T.G., Durning, M., Harris, C.P. and Hearn, J.P. 1996. Pluripotent cell line derived from common marmoset (*Callithrix jacchus*) *Biol. Reprod.* 55: 254-259.

van der Heyden, M.A.G., Hescheler, J. and Mummery, C.L. 2003. Spotlight on stem cells-makes old heart fresh. *Cardiovasc. Res.* 58: 241-245.

Yang, L., Li, S., Hatch, H., Ahrens, K., Cornelius, J.G., Peterson, B.E. and Peck, A.B. 2002. *In vitro* trans-differentiation of adult hepatic stem cells into pancreatic endocrine hormone-producing cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99: 8078-8083.

เลขที่ **14 / 2550**

ใบอนุญาตให้ใช้สัตว์
ในงานวิจัย งานทดสอบ งานผลิตชีววัตถุ และงานอื่น ๆ

ใบอนุญาตนี้ให้ไว้เพื่อแสดงว่าคณะกรรมการกำกับดูแลการใช้สัตว์เพื่อการศึกษาวิจัย ซึ่งมีหน้าที่กำกับและดูแลจรรยาบรรณการใช้สัตว์ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ให้เป็นไปตามจรรยาบรรณการใช้สัตว์ของสภาวิจัยแห่งชาติ ได้พิจารณาโครงการ **การผลิตและการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงแสม (*Maccaca fasicularis*)** ซึ่งมี **อาจารย์ ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย** เป็นหัวหน้าโครงการแล้ว เห็นสมควรอนุญาตให้ดำเนินการตามโครงการนี้ได้ โดยมีเงื่อนไขว่าผู้ใช้สัตว์ในความรับผิดชอบของโครงการต้องปฏิบัติตามข้อมูลที่กรอกในใบขออนุญาต และโครงการอย่างเคร่งครัด

กรณีที่มีการปฏิบัติอย่างหนึ่งอย่างใดนอกเหนือจากที่กรอกไว้ในข้อมูลและที่เสนอไว้ในโครงการ คณะกรรมการฯ จะดำเนินการงดใบอนุญาตนี้ และแจ้งหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทราบ

(ศาสตราจารย์ นาวาอากาศโท ดร. สราวุฒิ สุจิตจร)
ประธานคณะกรรมการกำกับดูแลการใช้สัตว์เพื่อการศึกษาวิจัย
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วันที่ออกใบอนุญาต	1	ธันวาคม 2549
วันที่หมดอายุ	1	ธันวาคม 2552

ใบรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการวิจัย

ชื่อโครงการวิจัย การผลิตและการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงแสม (*Maccaca fasicularis*)

หัวหน้าโครงการวิจัย อาจารย์ ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย

หน่วยงาน สังกัดสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ข้อเสนอโครงการวิจัยนี้ได้รับการพิจารณาโดยผู้ทรงคุณวุฒิด้านการใช้สัตว์ทดลองจำนวน 2 ท่านแล้ว และที่ประชุมคณะกรรมการกำกับดูแลการใช้สัตว์เพื่อการศึกษาวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ครั้งที่ 4/2549 เมื่อวันที่ 27 พฤศจิกายน 2549 มีมติอนุมัติให้ใช้สัตว์ทดลองเพื่อการศึกษาวิจัยตามข้อเสนอโครงการวิจัยนี้ได้

(ศาสตราจารย์ นาวาอากาศโท ดร. สราวุฒิ สุจิตจร)
ประธานคณะกรรมการกำกับดูแลการใช้สัตว์เพื่อการศึกษาวิจัย
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
30 พฤศจิกายน 2549

ประวัติผู้วิจัย

ผศ. ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นาย รังสรรค์ พาลพ่าย

(ภาษาอังกฤษ) Mr. Rangsun Parnpai

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 52 2094 00002 42 3

3. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้

ที่ทำงาน: สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

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

โทร. 044-224234 โทรสาร. 044-224154

ที่อยู่บ้าน: 51/31 หมู่ 6 ต.สุรนารี องเมือง จ.นครราชสีมา

4. ประวัติการศึกษา

4.1. ปริญญาตรี สาขาวิชา ชีววิทยา ปีที่จบ 2523

สถาบัน มหาวิทยาลัยบูรพา ประเทศ ไทย

4.2. ปริญญาโท สาขาวิชา สัตววิทยา ปีที่จบ 2525

สถาบัน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศ ไทย

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

4.3. ปริญญาเอก สาขาวิชา Animal Reproduction ปีที่จบ 2541

สถาบัน Kyoto University ประเทศ ญี่ปุ่น (ได้รับทุนรัฐบาลญี่ปุ่น)

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

4.4. ฝึกอบรมสาขา Embryo transfer and *in vitro* fertilization in farm animals.

ด้วยทุน British Council

สถาบัน Cambridge University, U.K. ระหว่าง พฤศจิกายน 2527 - กุมภาพันธ์ 2528.

4.5. สมาชิกสมาคมวิชาชีพ: International Embryo Transfer Society (IETS)

5. ประวัติการทำงาน:

- 9 ธันวาคม 2525 – 31 ตุลาคม 2543 นักวิจัย โครงการวิจัยวิทยาศาสตร์ไทย-เนเธอร์แลนด์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ
- 1 พฤศจิกายน 2543–ปัจจุบัน อาจารย์ประจำสาขาเทคโนโลยีชีวภาพสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา

6. สาขาวิชาที่มีความเชี่ยวชาญพิเศษ

6.1 การโคลนนิ่งตัวอ่อนโค กระบือ สุกร แมว โดยใช้เซลล์ร่างกายเป็นเซลล์ต้นแบบ

6.2 การย้ายฝากตัวอ่อนโค กระบือ แพะ

6.3 การปฏิสนธิในหลอดแก้วโค กระบือ

6.4 Embryonic stem cells

6.5 Cryopreservation of gametes and embryos

7. ผลงานวิจัย

7.1. ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

Liang Y.Y., Ye, D.N., Laowtammathron, C., Phermthai, T., Nagai, T., and **Parnpai, R.** 2009. 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.* DOI: 10.1111/j.1439-0531.2010.01636.x

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.

Tanthanuch, W., Thumanu, K., Lorthongpanich, C., **Parnpai, R**. and Heraud, P. 2010. Neural differentiation of mouse embryonic stem cells studied by FT-IR spectroscopy. *J. Mol. Struct.* 967: 189-195.

Laowtammathron, C., Cheng, E.C., Cheng, P.H, Snyder, B.R., Yang, S.H., Johnson, Z., Lorthongpanich, C., Kuo, H.C., **Parnpai, R**. and Chan, A.W.S. 2010. Monkey Hybrid Stem Cells Develop Cellular Features of Huntington's Disease. *BMC Cell Biology* 11: 12.

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.

Thumanu, K., Tanthanuch, W., Lorthongpanich, C., Heraud, P. and **Parnpai.** R. 2009. FTIR microspectroscopic imaging as a new tool to distinguish chemical composition of mouse blastocyst. *J. Mol. Struct.* 933: 104-111.

Suteevun-Phermthai, T., Curchoe, C.L., Evans, A.C., Boland, E., Rizos, D., Fair, T., Duffy, P., Sung, L.Y., Du, F., Chaubal, S., Xu, J., Wechayant, T., Yang, X., Lonergan, P., **Parnpai, R.**, and Tian, X. 2009. Allelic switching of the imprinted *IGF2R* gene in cloned bovine fetuses and calves. *Anim. Reprod. Science.* 116: 19-27.

Lorthongpanich, C., Yang, S.H., Piotrowska-Nitsche, K., **Parnpai, R.** and Chan, A.W.S. 2008. Development of single blastomere derived mouse embryos, outgrowths and embryonic stem cells. *Reproduction* 135: 805-813.

Lorthongpanich, C., Yang, S.H., Piotrowska-Nitsche, K., **Parnpai, R.** and Chan, A.W.S. 2008. Chemical enhancement in embryo development and stem cell derivation from single blastomeres *Cloning Stem Cells* 10: 503-512.

Lorthongpanich, C., Laowtammathron, C., Chan, A.W.S., Ketudat-Cairns, M. and **Parnpai, R.** 2008. Development of interspecies cloned monkey embryo reconstructed with bovine enucleated oocyte. *J. Reprod. Dev.* 54: 306-313.

Parnpai, R. 2007. Production of cloned embryos in buffalo. *Ital. J. Anim. Sci.* 6. Suppl. 2: 102-106.

Chan, A.W.S., Lorthongpanich, C., Yang, S.H., Piotrowska-Nitche, K. and **Parnpai, R.** 2007. Competence of early embryonic blastomeres for establishment of embryonic stem cell line. ***F**erti. Steril.* 88: S396-S396.

Muenthaisong, S., Laowtammathron, C., Ketudat-Cairns, M., **Parnpai, R.** and Hochi, S. 2007. Quality analysis of buffalo blastocysts derived from oocytes vitrified before or after enucleation and reconstructed with somatic cell nuclei. *Theriogenology* 67: 893-900.

Suteevun, T., Smith, S.L., Muenthaisong, S., Yang, X., **Parnpai, R.** and Tian, X.C. 2006. Anomalous mRNA levels of chromatin remodeling genes in swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) cloned embryos. *Theriogenology* 65: 1704-1715.

Suteevun, T., **Parnpai, R.**, Smith, S.L., Chang, C.C., Muenthaisong, S. and Tian, X.C. 2006. Epigenetic characteristics of cloned and in vitro-fertilized swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos. *J. Anim. Sci.* 84: 2065-2071.

Laowtammathron, C., Lorthongpanich, C., Ketudat-Cairns, C., Hochi, C., and **Parnpai, R.** 2005. Factors affecting cryosurvival of nuclear-transferred bovine and swamp buffalo blastocysts: effects of hatching stage, linoleic acid–albumin in IVC medium and Ficoll supplementation to vitrification solution. *Theriogenology* 64: 1185-1196.

7.2 นำเสนอผลงานในการประชุมนานาชาติ

Srirattana, K., Ketudat-Cairns, M., Phermthai, T., Takeda, K., Nagai T. and **Parnpai, R.** 2009. Somatic cell nuclear transfer in swamp buffalo. *Proceeding of Buffalo Propagation Conference, 17 December, 2009, Tainan, Taiwan, RPC.*

Srirattana, K., Takeda, K., Matsukawa, K., Tasai, M., Akagi, S., Nirasawa, K., Nagai, T., Y., Kanai, Ketudat-Cairns, M. and **Parnpai, R.** 2009. Quantitative analysis of mitochondrial DNA in swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) interspecies cloned embryos. *Proceeding of the 6th Annual Conference of Asian Reproductive Biotechnology Society conference, 16-20 November, 2009, Siem Reap City, Cambodia.* P.57.

Parnpai, R. 2009. Progress of inter-species somatic cell nuclear transfer in bovidae and felidae family. Proceeding The 7th Asian Symposium on Animal Biotechnology. Chungbuk National University, Korea, 19 June, 2009.

Suksawaeng, S. Danna, Y. and **Parnpai, R.** 2009. Heart chicken may able to maintain and induce mice embryonic stem cells to form hepatic plate-like structure. Proceeding of the 4th World Congress on Regenerative Medicine, 12-14 March 2009, Bangkok, Thailand. p.174.

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. Proceeding of the Annual Conference of International

Embryo Transfer Society, 3-6 January, 2009, San Diego, USA, Published in *Reprod. Fert. Dev.* 21: 126.

Liang Y. Y., Ye D. N., Laowtammathron C., Phermthai T., and **Parnpai R.** 2009. In vitro production of swamp buffalo embryos by intracytoplasmic sperm injection: effect of chemical activation treatments. Proceeding of the Annual Conference of International Embryo Transfer Society, 3-6 January, 2009, San Diego, USA, Published in *Reprod. Fert. Dev.* 21: 230.

Imsoonthornruksa, S**.,** Lorthongpanich, C., Sangmalee, A., Srirattana, K., Sripunya, N., Keawmungkun, K., Wanwisa, P., Laowtammathron, C., Tunwattana, W., Somsa, W., Kongkham, W., Ketudat-Cairns, M., and **Parnpai, R.** 2007. Expression profile of Oct4 in pre-implantation embryo of cloned endangered felid species. Proceeding of the 4th Asian Reproductive Biotechnology Conference, 24-26 November, 2007. National University of Singapore, Singapore: p. 89.

Laowtammathron, C., Srirattana, K., Lorthongpanich, C., Imsoonthornruksa, S., Sripunya, N., Phewsoi, W., Keawmungkun, K., Davahudee, R., Sangmalee, A., Thongprapai, T., Chaimongkol, C., Ketudat-Cairns, M., and **Parnpai, R.** 2007. Effect of activation treatments on development of bovine embryos after intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Proceeding of the 4th Asian Reproductive Biotechnology Conference, 24-26 November, 2007. National University of Singapore, Singapore: p. 137.

Lorthongpanich, C., Yang, S.H., Piotrowska-Niches, K., **Parnpai, R.** and Chan, A.W.S. 2007. Embryonic stem cell establishment from mouse single blastomere. Proceeding of the 4th Asian Reproductive Biotechnology Conference, 24-26 November, 2007. National University of Singapore, Singapore: p. 112.

Parnpai, R. 2007. The progress of interspecies SCNT: Bovidae and felidae cases. Proceeding of the 4th Asian Reproductive Biotechnology Conference, 24-26 November, 2007. National University of Singapore, Singapore: p. 46.

Sangmalee, A., Srirattana, K., Sripunya, N., Phewsoi, W., Keawmungkun, K., Imsoonthornruksa S., Lorthongpanich, C., Laowtammathron, Ketudat-Cairns, M. and **Parnpai, R.** 2007. Birth of cloned goat : a preliminary study for conservation of endangered mountain goat. Proceeding of the 4th Asian Reproductive Biotechnology Conference, 24-26 November, 2007. National University of Singapore, Singapore: p. 80.

Srirattana, K., Imsoonthornruksa S., Tunwattana, W., Lorthongpanich, C., Laowtammathron, C., Sripunya, Keawmungkun, K., Wanwisa, P., Ketudat-Cairns, M. and **Parnpai, R.** 2007. Telomerase activity of in inter-species somatic cell nuclear transfer gaur embryos. Proceeding of the 4th Asian Reproductive Biotechnology Conference, 24-26 November, 2007. National University of Singapore, Singapore: p. 130.

Imsoonthornruksa S., Lorthongpanich, C., Srirattana, K., Sripunya, N., Laowtammathron, C., Ketudat Cairns, M. and **Parnpai, R.** 2007. Effect of manipulation medium on the development of reconstructed domestic cat embryos. Proceeding of the Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, 6-10 January 2007, Kyoto, Japan, Published in *Reprod. Fertil. Dev.* 19: 141.

Lorthongpanich, C., Srirattana, K., Imsoonthornruksa S**.,** Sripunya, N., Laowtammathron, C., Kumpong, O., Ketudat-Cairns, M., and **Parnpai, R.** 2007. Expression and distribution of Oct-4 in interspecies-cloned long-tailed monkey (*Macaca fascicularis*) embryos. Proceeding of the Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, 6-10 January 2007, Kyoto, Japan, Published in *Reprod. Fertil. Dev.* 19: 149.

Parnpai, R., Lorthongpanich, C., Laowtammathron, C., Imsoonthornruksa S., Muenthaisong, S., and Ketudat Cairns, M. 2006. Recent status of somatic cell nuclear transfer for conservation of endangered species. Proceeding of the 3^{rd} Asian Reproductive Biotechnology Conference, 29 November – 3 December 2006, Hanoi, Vietnam, p. 44-47.

Lorthongpanich, C., Srirattana, K., Imsoonthornruksa S., Sripunya, N., Laowtammathron, C., Somsa, W., Kongsila, A., Kretapol, K., Ketudat-Cairns, M. and **Parnpai, R.** 2006. Development of interspecies cloned long tailed monkey (*Macaca fascicularis*) embryos after reconstructed with bovine enucleated oocytes and culturing in different condition. Proceeding of the 3^{rd} Asian Reproductive Biotechnology Conference, 29 November – 3 December 2006, Hanoi, Vietnam, p. 125-126.

Srirattana, K., Lorthongpanich, C., Imsoonthornruksa S., Sripunya, N., Tangthai, C., Laowtammathron, C., Ketudat-Cairns, M. and **Parnpai, R.** 2006. Effect of donor cell types on development of cloned swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) and bovine (*Bos taurus*) embryos. Proceeding of the 3^{rd} Asian Reproductive Biotechnology Conference, 29 November – 3 December 2006, Hanoi, Vietnam, p. 134-135.

Imsoonthornruksa S., Lorthongpanich, C., Srirattana, K., Sripunya, N., Laowtammathron, C., Tanwatana, W., Somsa, W., Kongkham, W., Kretapol, K., Ketudat-Cairns, M. and **Parnpai, R.** 2006. Differentiation of marbled cat (*Pardofelis marmorata*) nuclei after reconstructed with enucleated domestic cat and bovine oocytes. Proceeding of the 3rd Asian Reproductive Biotechnology Conference, 29 November – 3 December 2006, Hanoi, Vietnam, p. 140.

Parnpai, R., Muenthaisong, S., Suteevun, T., Na-Chiangmai, A., Laowtammathron, C., Lorthongpanich, C., Sanghuayphrai, N. and Ketudat Cairns, M. 2006. Production of swamp buffalo emryos: Comparison of in vitro fertilization and somatic cell nuclear transfer techniques. *Proceeding of the 5th Asian Buffalo* Congress, Naning, China, 18-22 April, 2006, p. 616-620.

Curchoe, C., Suteevun, T., Yang, X., **Parnpai, R.** and Tian, X.C. 2005. Analysis of the expression pattern of the imprinted *IGF2R* gene in cloned cattle. *Proceeding of the 2nd Asian Reproductive Biotechnology, 2-7 November, 2005, Bangkok, Thailand. p* 159.

Lorthongpanich, C., Laowtammathron C., Monson R.L., M. Wiltbank., Sangsitavong S., **Rarnpai R.** and Rutledge, J.J. 2005. Kinetic changes of *in vitro* produced bovine sexed pre-implantation embryos. 2005. *Proceeding of the 2nd Asian Reproductive Biotechnology*, Bangkok, Thailand, 3-4 November, 2005, p.157.

Sang-ngam, C., Imsoonthornruksa S., Tangthai C., Srirattana, K., Tunwattana, W., Muenthaisong, S., Laowtammathron C., Lorthongpanich, C., Ketudart-cairn, M. and **Parnpai, R.** 2005. Interspecies nuclear transfer using female and male gaur *(Bos gaurus)* skin fibroblasts reconstructed with enucleated bovine oocytes. *Proceeding of the 2nd Asian Reproductive Biotechnology, 2-7 November, 2005, Bangkok, Thailand. p 170.*

Suteevun, T., Smith, S.L., Muenthaisong, S., Yang, X., **Parnpai, R.** and Tian, X.C. 2005. Expression of chromatin remodeling genes in cloned and IVF swamp buffalo embryos. *Proceeding of the 2nd Asian Reproductive Biotechnology, 2-7 November, 2005, Bangkok, Thailand. p* 97-99.

Laowtammathron, C., Imsoonthornraksa, S., Mueanthaisong, S., Lorthongpanich, C., Vetchayun, T., Sang-ngam, C., Tangthai, C., Ketudat-Cairns, M. and **Parnpai. R.** 2005. Effect of two concentrations of cryoprotectant in vitrification solution on post-warmed survival of cloned bovine blastocysts vitrified by micro-drop technique. *Proceeding of the 12th*

International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction. Chiangmai, Thailand, 4-6 August 2005, p. 135-140.

Muenthaisong, S., Laowtammathron, C., Lorthongpanich, Imsoonthornsuksa, S., Tangthai, C., Sang-ngam, C., Hochi, S., Ketudat-Cairns, M., and **Parnpai, R.** 2005. Developmental potential of parthenogenetic activation of swamp buffalo embryos between fresh and vitrified oocytes. *Proceeding of the 12th International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction.* Chiangmai, Thailand, 4-6 August 2005, p. 93-97.

Parnpai, R. 2005. Somatic cell nuclear transfer of cattle and buffalo in Thailand. *Proceeding of the 12th International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction.* Chiangmai, Thailand, 4-6 August 2005, p. 4-16.

Laowtammathron, C., Terao, T., Lorthongpanich, C., Muenthaisong, S., Vetchayan, T., Hochi, S., and **Parnpai, R.** 2004. Effect of hatching status on vitrification of cloned bovine blastocysts. *Proceeding of Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society Conference,* Portland, USA, 10-14 January, 2004. Published in *Reprod. Fert. Dev.* 16: 174.

Laowtammathron, C., Terao, T., Lorthongpanich, C., Muenthaisong, S., Vetchayan, T., Hochi, S. and **Parnpai. R.** 2004. The effect of ficoll in vitrification solution and hatching status of cloned bovine blastocysts on the survival rate after vitrification by using cryotop. *Proceeding of the 1st Asian Reproductive Biotechnology Conference.* Ho Chi Minh City, Vietnam. 12-14 April, 2004, p. 67.

Lorthongpanich, C., Laowtammathron, C., Muenthaisong, S., Vetchayan, T.,Wongviriya, W, Ketudat-Cairns, M., Likitdecharote, B. and **Parnpai, R.** 2004. Cloning of leopard cat embryos using enucleated domestic cat oocytes as recipient cytoplast. *Proceeding of the 1st Asian Reproductive Biotechnology Conference.* Ho Chi Minh City, Vietnam. 12-14 April 2004. p. 61.

Lorthongpanich, C., Laowtammathron, C., Muenthaisong, S., Vetchayan, T., Ketudat-Cairns, M., Likitdecharote, B. and **Parnpai, R.** 2004. In vitro development of enucleated domestic cat oocytes reconstructed with skin fibroblasts of domestic and leopard cats. *Proceeding of Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society Conference,* Portland, USA, 10-14 January, 2004. Published in *Reprod .Fert. Dev.* 16: 149.

Parnpai, R., Laowtammathron, C., Terao,T., Lorthongpanich, C., Muenthaisong, S., Vetchayan, T., and Hochi, S. 2004. Development into blastocysts of swamp buffalo oocytes after

vitrification and nuclear transfer. *Proceeding of Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society Conference.* Portland, USA, 10-14 January, 2004, Published in *Reprod. Fert. Dev.* 16: 180-181.

Laowtammathron, C., Lorthongpanich, C., Muenthaisong, S., Vetchayan, T., Somwan, S., Muankatoke, P., Patitung, S. and **Parnpai, R.** 2003. Production of dairy and beef cattle by cloning technology. *Proceeding of the 10th Tri-University International Joint Seminar and Symposium.* Mie University, Mie, Japan, 21 October 2003. p. 389-393.

Laowtammathron, C., Terao, T., Lorthongpanich, C., Muenthaisong, S., Vetchayan, T., Hochi S. and **Parnpai. R.** 2003. Effect of Ficoll in vitrification solution on the post-warmed development of vitrified cloned bovine hatching blastocysts. *Proceeding of Stem Cell and Somatic Cell Cloning Research. Present status and future trends.* Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 3 December 2003. p. 48-51.

Lorthongpanich, C., Laowtammathron, C., Terao, T. Muenthaisong, S., Vetchayan, T., Hochi, S., and **Parnpai, R.** 2003. Developmental potential of cloned swamp buffalo embryo reconstructed with vitrified matured oocytes. *Proceeding of Stem Cell and Somatic Cell Cloning Research. Present status and future trends.* Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 3 December 2003. p. 43-47.

Parnpai, R. 2003. Mammalian somatic cell cloning status in Thailand. *Proceeding of Stem Cell and Somatic Cell Cloning Research. Present Status and Future Trends.* Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 3 December 2003, p. 18-26.

Parnpai, R. and Tasripoo, K. 2003. Effects of different activation protocols on the development of cloned swamp buffalo embryos derived from granulosa cells. *Proceeding of Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society Conference.* Auckland, New Zealand, 11-15 January, 2003, Published in *Theriogenology* 59: 279.

Parnpai, R., Tasripoo, K. and Kamonpatana, M. 2002. Comparison of cloning efficiency in bovine and swamp buffalo embryo using fetal fibroblasts ear fibroblasts and granulosa cells. *Proceeding of Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society Conference.* Foz Do Iguassu, Brazil, 12-15 January, 2002,, Published in *Theriogenology* 57: 443.

Parnpai, R., Tasripoo, K. and Kamonpatana, M. 2001. Developmental potential of vitrified cloned swamp buffalo morulae derived from granulosa cells. *Proceeding of Annual Meeting of the*

International Embryo Transfer Society Conference, Omaha, USA, 13-16 January, 2001, Published in *Theriogenology* 55: 284.

Parnpai, R., Tasripoo, K. and Kamonpatana, M. 1999. Development of cloned swamp buffalo embryos derived from fetal fibroblasts: comparison *in vitro* cultured with or without buffalo and cattle epithelial cells. *Buffalo J.* 15 (3): 371-384.

7.3 ตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติ

จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2546. การโคลนนิ่งข้ามสปีชีส์เพื่ออนุรักษ์และเพิ่มจำนวนสัตว์ใกล้สูญพันธุ์. *Lab.Today.* 2: 33-37.

รังสรรค์ พาลพ่าย. 2530. อดีต ปัจจุบัน และ อนาคตของการย้ายฝากตัวอ่อน. *เวชสารสัตวแพทย์* 16: 258-269.

รังสรรค์ พาลพ่าย สรรเพชญ โสภณ มณีวรรณ กมลพัฒนะ กำธร มีบำรุง กิติยา ศรีศักดิ์วัฒนะ ประชุม อินทรโชติ ธวัชชัย สุวรรณกำจาย ประภากร วัฒโนดร พฤฒิ เกิดชูชื่น และ สมสวัสดิ์ ตันตระกูล. 2530. การย้ายฝากตัวอ่อน (E.T.) ในประเทศไทย. *แก่นเกษตร* 15: 271-280.

รังสรรค์ พาลพ่าย และ จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์. 2545. แนวทางการโคลนนิ่งเพื่ออนุรักษ์และเพิ่มจำนวนสัตว์ใกล้สูญพันธุ์. *วารสารสัตว์ป่าเมืองไทย.* 10: 82-85.

7.4 นำเสนอในการประชุมระดับชาติ

ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ กาญจนา ปัญญาไว ศิวัช สังข์ศรีทวงษ์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2553. ผลของโกรทแฟ็กเตอร์ต่อการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลขนาดเล็กภายนอกร่างกายในกระบือปลัก: การศึกษาเบื้องต้น. *การประชุมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 11 ประจำปี 2553 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.* หน้า 309-313.

นุชจรินทร์ ศรีปัญญา กาญจนา ปัญญาไว วันวิสาข์ ผิวสร้อย กนกวรรณ ศรีรัตนา ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2553. อัตราการเจริญพร้อมปฏิสนธิในหลอดแก้วของไข่อ่อนโคหลังจากแช่แข็งด้วยวิธี Cryotop และ Solid Surface Vitrification. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 48 สาขาสัตวแพทยศาสตร์.* กรุงเทพฯ, หน้า 103-108.

วันวิสาข์ ผิวสร้อย กนกวรรณ ศรีรัตนา นุชจรินทร์ ศรีปัญญา กาญจนา ปัญญาไว และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2553. อัตราการเจริญของตัวอ่อนช้างที่ได้จากการโคลนนิ่งข้ามชนิด. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 48 สาขาสัตวแพทยศาสตร์.* กรุงเทพฯ, หน้า 238-245.

หยวนหยวน เหลียง และ **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2553. อัตราการอยู่รอดของไข่สุกกระบือปลักที่ผ่านการ vitrification ด้วยวิธี Microdrop และ Cryotop และการเจริญเติบโตของตัวอ่อนภายหลังการฉีดตัวอสุจิเข้าในไซโต พลาสซึม. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 48 เล่มที่ 3 สาขาสัตวแพทยศาสตร์*. กรุงเทพฯ, หน้า 95-102.

กนกวรรณ ศรีรัตนา สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ นุชจรินทร์ ศรีปัญญา วันวิสาข์ ผิวสร้อย ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ ฤทธิ์วิณห์ เทวาหุดี อนวัช แสงมาลี วันชัย ตันวัฒนะ วชิรวิทย์ สมสา มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2552. ผลของ Trichostatin A ต่ออัตราการเจริญเติบโตของตัวอ่อนโคโคลนนิ่งและตัวอ่อนกระทิงโคลนนิ่งข้ามชนิด. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 47 เล่มที่ 2 สาขาสัตว์*. กรุงเทพฯ, หน้า 10-16.

ชุติ เหล่าธรรมธร กนกวรรณ ศรีรัตนา อนวัช แสงมาลี สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ นุชจรินทร์ ศรีปัญญา วันวิสาข์ ผิวสร้อย ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ ฤทธิ์วิณห์ เทวาหุดี ธรรมนูญ ทองประไพ โชคชัย ชัยมงคล มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2552. ลูกโคโคลนนิ่งเกิดจากการย้ายฝากตัวอ่อนแช่แข็งโดยวิธี vitrification แบบหยด. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 47 เล่มที่ 2 สาขาสัตว์*. กรุงเทพฯ, หน้า 99-105.

หยวนหยวน เหลียง อนวัช แสงมาลี สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ กนกวรรณ ศรีรัตนา นุชจรินทร์ ศรีปัญญา วันวิสาข์ ผิวสร้อย ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ ชุติ เหล่าธรรมธร ดานา เย มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2552. ผลของการใช้สารเคมีกระตุ้นการแบ่งตัวต่อการพัฒนาของตัวอ่อนกระบือภายหลังการ ICSI. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 47 เล่มที่ 3 สาขาสัตวแพทยศาสตร์*. กรุงเทพฯ, หน้า 78-86.

อนวัช แสงมาลี สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ กนกวรรณ ศรีรัตนา นุชจรินทร์ ศรีปัญญา วันวิสาข์ ผิวสร้อย ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ ชุติ เหล่าธรรมธร ฤทธิ์วิณห์ เทวาหุดี มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2552. ผลของเซลล์ต้นแบบต่อประสิทธิภาพและคุณภาพของตัวอ่อนโคโคลนนิ่ง. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 47 เล่มที่ 3 สาขาสัตวแพทยศาสตร์*. กรุงเทพฯ, หน้า 87-94.

สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ อนวัช แสงมาลี กนกวรรณ ศรีรัตนา ชุติ เหล่าธรรมธร มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2551. การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ nuclear reprogramming ในตัวอ่อนสัตว์ตระกูลแมวใกล้สูญพันธุ์โคลนนิ่ง.

เรื่องเต็มการการประชุมวิชาการระดับนานาชาติสมาคมเทคโนโลยีชีวภาพแห่งประเทศไทย. มหาสารคาม, หน้า 292-297.

กาญจนา ธรรมนู วราภรณ์ ตัณฑนุช จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2551. การศึกษาตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสของหนูเม้าส์ด้วยวิธี synchrotron infrared microspectroscopic mappings และ focal plane array imaging. *เรื่องเต็มการการประชุมวิชาการระดับนานาชาติสมาคมเทคโนโลยีชีวภาพแห่งประเทศไทย.* มหาสารคาม, หน้า 131.

สุรชัย รัตนสุข **รังสรรค์ พาลพ่าย** และ มารินา เกตุทัต-คาร์นส์. 2551. การเปรียบเทียบไพร์เมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบเพศของโค. *เรื่องเต็มการการประชุมวิชาการระดับนานาชาติสมาคมเทคโนโลยีชีวภาพแห่งประเทศไทย.* มหาสารคาม, หน้า 184.

ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ กนกวรรณ ศรีรัตนา สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ นุชจรินทร์ ศรีปัญญา วันวิสาข์ ผิวสร้อย อนวัช แสงมาลี ฤทธิ์วิณห์ เทวาหุดี รุ่ง จันตาบุญ มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2551. การอนุรักษ์โคพันธุ์ขาวลำพูนโดยการทำโคลนนิ่ง. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. สาขาสัตว์.* กรุงเทพฯ, หน้า 25-30.

นุชจรินทร์ ศรีปัญญา กนกวรรณ ศรีรัตนา ชุติ เหล่าธรรมธร วันวิสาข์ ผิวสร้อย ฤทธิ์วิณห์ เทวาหุดี อนวัช แสงมาลี ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ วันชัย ตันวัฒนะ ธรรมนูญ ทองประไพ โชคชัย ชัยมงคล และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2551. การผลิตกระทิงโคลนนิ่งโดยเทคนิคการโคลนนิ่งข้ามชนิด. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. สาขาสัตว์.* กรุงเทพฯ, หน้า 78-84.

วันวิสาข์ ผิวสร้อย นุชจรินทร์ ศรีปัญญา กนกวรรณ ศรีรัตนา อนวัช แสงมาลี ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ ฤทธิ์วิณห์ เทวาหุดี มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2551. ลูกแพะเกิดจากการโคลนนิ่งโดยใช้เซลล์ไฟโบรบลาสจากใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. สาขาสัตว์.* กรุงเทพฯ, หน้า 19-24.

อนวัช แสงมาลี สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ กนกวรรณ ศรีรัตนา นุชจรินทร์ ศรีปัญญา วันวิสาข์ ผิวสร้อย ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ ชุติ เหล่าธรรมธร ฤทธิ์วิณห์ เทวาหุดี มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2551. ลูกแมวบ้านโคลนนิ่งเกิดจากการทำย้ายฝากนิวเคลียสของเซลล์ร่างกาย. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. สาขาสัตว์.* กรุงเทพฯ, หน้า 85-90.

สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ อนวัช แสงมาลี กนกวรรณ ศรีรัตนา นุชจรินทร์ ศรีปัญญา ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ วันวิสาข์ ผิวสร้อย ชุติ เหล่าธรรมธร วันชัย ตันวัฒนะ วชิรวิทย์ สมสา วิชิต กองคำ มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2551 การแสดงออกของยีน *Oct4* ในตัวอ่อนโคลนนิ่งสัตว์ตระกูลแมวใกล้สูญพันธุ์. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 4* ขอนแก่น, หน้า 344-348.

ชุติ เหล่าธรรมธร กนกวรรณ ศรีรัตนา จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา นุชจรินทร์ ศรีปัญญา วันวิสาข์ ผิวสร้อย ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ ฤทธิ์วิณห์ เทวาหุดี อนวัช แสงมาลี ธรรมนูญ ทองประไพ โชคชัย ชัยมงคล มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2551. ผลของการกระตุ้นการเจริญเติบโตของตัวอ่อนโคที่ผลิตโดยวิธีอิ๊กซี่. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 4* ขอนแก่น, หน้า 349-352.

จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ แชงชัว หยาง คาโรลิน่า เพียโทรสกา-นิชชี่ แอนโทนี่ ชาง และ **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2551. การทดสอบสารเคมีที่มีผลต่ออัตราความสำเร็จของการผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนจากเซลล์ตัวอ่อนก่อนระยะฝังตัว. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 4* ขอนแก่น, หน้า 340-343.

อนวัช แสงมาลี กนกวรรณ ศรีรัตนา นุชจรินทร์ ศรีปัญญา วันวิสาข์ ผิวสร้อย ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ ชุติ เหล่าธรรมธร มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2551. ความสำเร็จในการทำโคลนนิ่งแพะและความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้ในการอนุรักษ์เลียงผา. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 4* ขอนแก่น, หน้า 332-335.

กนกวรรณ ศรีรัตนา สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา วันชัย ตันวัฒนะ จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ ชุติ เหล่าธรรมธร นุชจรินทร์ ศรีปัญญา ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ วันวิสาข์ ผิวสร้อย มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2551. การเจริญเติบโตและกิจกรรมของเอนไซม์เทโลเมอเรสในตัวอ่อนกระทิงโคลนนิ่งข้ามสายพันธุ์. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 4* ขอนแก่น, หน้า 336-339.

ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา อนวัช แสงมาลี กนกวรรณ ศรีรัตนา นุชจรินทร์ ศรีปัญญา วันวิสาข์ ผิวสร้อย ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ ธรรมนูญ ทองประไพ โชคชัย ชัยมงคล มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2550. ประสิทธิภาพการปฏิสนธิและอัตราการพัฒนาในหลอดแก้วของตัวอ่อนโคนมโดยใช้น้ำเชื้อโคนมแช่แข็งจากพ่อโค 5 ตัว. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. สาขาสัตว์.* กรุงเทพฯ, หน้า 245-250.

สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ กนกวรรณ ศรีรัตนา นุชจรินทร์ ศรีปัญญา อนวัช แสงมาลี รุ่ง จันตาบุญ มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2550. อัตราการตั้งท้องหลังการย้ายฝากตัวอ่อนโคบราห์มันแช่แข็งแบบย้ายฝากโดยตรง หรือการล้างตัวอ่อนแบบ 3 ขั้นตอนก่อนนำไปย้ายฝาก. *เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. สาขาสัตว์.* กรุงเทพฯ , หน้า 260-265

ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา กนกวรรณ ศรีรัตนา ศิวัช สังข์ศรีทวงษ์ มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2549. การผลิตตัวอ่อนแยกเพศโคที่ปฏิสนธิในหลอดแก้ว. *การประชุมสัมมนาปริญญาเอกกาญจนาภิเษก ครั้งที่ 47.* น่าน, หน้า 7.

สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ กนกวรรณ ศรีรัตนา นุชจรินทร์ ศรีปัญญา ชุติ เหล่าธรรมธร มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2549. อิทธิพลของขนาดการฟักออกจากเปลือก ต่ออัตราการรอดชีวิตหลังจากแช่แข็งแบบ vitrification ของตัวอ่อนแมวบ้านโคลนนิ่ง. *การประชุมสัมมนาปริญญาเอกกาญจนาภิเษก ครั้งที่ 47.* น่าน, หน้า 59.

กนกวรรณ ศรีรัตนา จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา นุชจรินทร์ ศรีปัญญา ชมพูนุท แตงไทย ชุติ เหล่าธรรมธร มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2549. ผลของเซลล์ต้นแบบต่ออัตราการเจริญเติบโตของตัวอ่อนกระบือปลักโคลนนิ่ง. *การประชุมสัมมนาปริญญาเอกกาญจนาภิเษก ครั้งที่ 47.* น่าน, หน้า 47-48.

ธวัชชัย เวชยันต์ ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ สุจิตรา หมื่นไธสง ปิยมาศ การสมดี มารินาเกตุทัต คาร์นส์ เพลิน เมินกระโทก สมพงษ์ ปาติตัง สมบัติ ศิริอุดมเศรษฐ์ สุริยา กิจสำเร็จ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2548. การเจริญเติบโตของลูกโคโคลนนิ่งที่ผลิตจากเซลล์ไฟโบรบลาสใบหูของพ่อโคพันธุ์บราห์มัน. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43. สาขาสัตว์.* กรุงเทพฯ, หน้า 67-72.

สุจิตรา หมื่นไธสง ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพาณิชย์ สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา ชัยสิทธิ์ แสงงาม ชมพูนุท แตงไทย ธวัชชัย เวชยันต์ มารินา เกตุทัต คาร์นส์ ชินิชิ โฮชิ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2548. การเจริญเติบโตของตัวอ่อนกระบือปลัก Parthenogenetic activation จากโอโอไซท์สดและโอโอไซท์แช่แข็งโดยวิธี Vitrification. *เอกสารประกอบการสัมมนางานวิจัยของคณาจารย์ มทส และความร่วมมือด้านการพัฒนากลุ่มงานวิจัยในเครือข่ายอุดมศึกษานครราชสีมา, ประจำปี 2548.* หน้า 37-39.

สุจิตรา หมื่นไธสง ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา ชัยสิทธิ์ แสงงาม ชมพูนุท แตงไทย ทัสสุมา เทราโอ ธวัชชัย เวชยันต์ สรยุทธ ใจช่วง มารินา เกตุทัต คาร์นส์ ชินิชิ โฮชิ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2548. การเจริญเติบโตสู่ระยะบลาสโตซีสของ

ตัวอ่อนกระบือปลักโคลนนิ่งจากการใช้โอโอไซท์แช่แข็งด้วยวิธี Vitrification. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43. สาขาสัตว์.* กรุงเทพฯ, หน้า 59-66.

สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา ชัยสิทธิ์ แสงงาม วันชัย ตันวัฒนะ สุจิตรา หมื่นไธสง ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ มารินา เกตุทัต คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2548. การเจริญของตัวอ่อนกระทิงโคลนนิ่งโดยใช้ไข่โคเป็นไซโตพลาสซึมผู้รับ. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43. สาขาสัตว์.* กรุงเทพฯ, หน้า 73-77.

จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ ชุติ เหล่าธรรมธร ทัสสุมา เทราโอ สุจิตรา หมื่นไธสง ธวัชชัย เวชยันต์ ชินิชิ โฮชิ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2547. การเจริญสู่ระยะบลาสโตซีสของตัวอ่อนควายโคลนนิ่งหลังจากการแช่แข็งไข่โดยวิธี Vitrification. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. สาขาสัตว์.* กรุงเทพฯ, หน้า 83-87.

จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ ชุติ เหล่าธรรมธร สุจิตรา หมื่นไธสง ธวัชชัย เวชยันต์ วัชระ วงศ์วิริยะ มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2547. การโคลนนิ่งข้ามสปีชีส์โดยใช้ไข่แมวบ้านเป็นไซโตพลาสซึมผู้รับและเซลล์ไฟโบรบลาสจากผิวหนังแมวดาวเป็นเซลล์ต้นแบบ. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. สาขาสัตวแพทย์.* กรุงเทพฯ, หน้า 351-355.

ชุติ เหล่าธรรมธร ทัสสุมา เทราโอ จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ สุจิตรา หมื่นไธสง ธวัชชัย เวชยันต์ ชินิชิ โฮชิ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2547. ผลของ Hatching stage ของตัวอ่อนโคโคลนนิ่งต่ออัตราการรอดหลังจาก Vitrification. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. สาขาสัตว์.* กรุงเทพฯ, หน้า 88-93.

รังสรรค์ พาลพ่าย ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ สุจิตรา หมื่นไธสง ธวัชชัย เวชยันต์ เสวียน ส้มหวาน เพลิน เมินกระโทก สมพงษ์ ปาติตัง สุริยา กิจสำเร็จ และ สมบัติ ศิริอุดมเศรษฐ์. 2547. การใช้เทคโนโลยีโคลนนิ่งผลิตโคเนื้อและโคนมพันธุ์ดี. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัย เกษตร ศาสตร์. ครั้งที่ 42.* สาขาสัตว์. กรุงเทพฯ, หน้า 94-98.

รังสรรค์ พาลพ่าย ธวัชชัย เวชยันต์ ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ สุจิตรา หมื่นไธสง ปิยมาศ การสมดี มารินา เกตุทัต คาร์นส์ เพลิน เมินกระโทก สมพงษ์ ปาติตัง สมบัติ ศิริอุดมเศรษฐ์ สุริยา กิจสำเร็จ. 2547. การเจริญเติบโตของลูกโคโคลนนิ่งที่ผลิตจากเซลล์ไฟโบรบลาสใบหูของพ่อโคพันธุ์บราห์มัน. *บทคัดย่อผลงานวิจัยการสัมมนาเรื่อง กลุ่มงานวิจัยในภาคีอุดมศึกษานครราชสีมา ปี 2547.* หน้า 29.

สุจิตรา หมื่นไธสง ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา ชัยสิทธิ์ แสงงาม ชมพูนุท แตงไทย ทัสสุมา เทราโอ ธวัชชัย เวชยันต์ สรยุทธ ใจช่วง มารินา เกตุทัต คาร์นส์ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2547. การเจริญเติบโตสู่ระยะบลาสโตซีสของ

ตัวอ่อนกระบือปลักโคลนนิ่งจากการใช้โอโอไซท์แช่แข็งด้วยวิธี Vitrification. *บทคัดย่อผลงานวิจัยการสัมมนาเรื่องกลุ่มงานวิจัยในภาคีอุดมศึกษานครราชสีมา ปี 2547.* หน้า 26.

จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ ชุติ เหล่าธรรมธร สุจิตรา หมื่นไธสง วัชระ วงษ์วิริยะ และ **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2546. การโคลนนิ่งตัวอ่อนแมวดาว (*Felis bengalensis*) ข้ามชนิดโดยใช้ไข่แมวบ้าน (*Felis catus*) เป็นไซโตพลาสซึมผู้รับ. *เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ครั้งที่ 13 พันธุศาสตร์กับการพัฒนาที่ยั่งยืน.* พิษณุโลก, หน้า 112-115.

จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ ชุติ เหล่าธรรมธร สุจิตรา หมื่นไธสง และ **รังสรรค์ พาลพ่าย**. 2546. การทดสอบค่ากระแสไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการทำโคลนนิ่งตัวอ่อนแมว โดยใช้เซลล์ไฟโบรบลาสจากใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ. *เรื่องเต็มการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 41 สาขาวิทยาศาสตร์* กรุงเทพฯ, หน้า 84-88.

ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ สุจิตรา หมื่นไธสง ธวัชชัย เวชยันต์ เสวียน ส้มหวาน เพลิน เมินกระโทก สมพงษ์ ปาติตัง และ **รังสรรค์ พาลพ่าย.** 2546. การทดสอบการผลิตโคนมและโคเนื้อพันธุ์ดีโดยเทคโนโลยีโคลนนิ่ง. *เอกสารประกอบการสัมมนางานวิจัยของคณาจารย์ มทส และความร่วมมือด้านงานวิจัยในภาคีอุดมศึกษา นครราชสีมา ประจำปี 2546.* หน้า 54-55.

8. การเขียนตำรา-หนังสือ

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

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

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.

รังสรรค์ พาลพ่าย 2549. เทคโนโลยีการโคลนนิ่งโค. เอกสารคำสอนวิชา 304 553 Animal Cloning Technology และ 304 554 Selected Research in Animal Cloning Technology. 389 หน้า.

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. รางวัลที่ได้รับ

9.1. จากผลงานวิจัยการย้ายฝากตัวอ่อนโคนมจนประสบผลสำเร็จ ได้ลูกแฝดโคนมเกิดมาครั้งแรกของประเทศไทยเมื่อวันที่ 8 กันยายน 2529 ทำให้งานวิจัยนี้ถูกยกย่องให้เป็น 1 ใน 10 ข่าวเด่นของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

9.2. รางวัลผลงานวิจัยดี (อันดับ 1 สาขาสัตว์) ในการเสนอผลงานวิจัยเรื่อง "ความเป็นไปได้ในการผลิตโคพันธุ์ดีด้วยเทคโนโลยีโคลนนิ่งโดยใช้เซลล์ไฟโบรบลาสเป็นเซลล์ต้นแบบ" ในการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38 พ.ศ. 2543

9.3. รางวัลผลงานวิจัยดี สาขาวิทยาศาสตร์ ในการเสนอผลงานวิจัยเรื่อง "การทดสอบค่ากระแสไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการทำโคลนนิ่งตัวอ่อนแมวโดยใช้เซลล์ไฟโบรบลาสจากใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ" ในการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 พ.ศ. 2546

9.4. รางวัลนักวิจัยดีเด่น จากสมาคมเทคโนโลยีชีวภาพแห่งประเทศไทย ได้รับเชิญเป็นผู้ปาฐกถาอายิโน๊ะโมะโต๊ะ เรื่อง "Somatic cell cloning in bovine using ear fibroblast as donor cells" ในการประชุมประจำปีของสมาคมปี พ.ศ. 2547

9.5. รางวัลผลงานวิจัยดี (อันดับ 1 สาขาสัตว์) ในการเสนอผลงานวิจัยเรื่อง "การใช้เทคโนโลยีโคลนนิ่งผลิตโคเนื้อและโคนมพันธุ์ดี" ในการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42 พ.ศ. 2547

9.6. รางวัลบุคลากรสายวิชาการที่มีผลงานดีเด่นด้านการวิจัย ประจำปี 2548 จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

9.7. รางวัลแทนคุณแผ่นดิน สาขาวิทยาศาสตร์ ประจำปี 2550 จากเครือเดอะเนชั่น

9.8. รางวัลผลงานวิจัยดี (อันดับ 1 สาขาสัตว์) ในการเสนอผลงานวิจัยเรื่อง "การอนุรักษ์โคพันธุ์ขาวลำพูนโดยการทำโคลนนิ่ง" ในการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 พ.ศ. 2551

10. การจดสิทธิบัตร

10.1. รังสรรค์ พาลพ่าย วิศิษฐิพร สุขสมบัติ อาวุธ อินทรชื่น อุดมวิทย์ มณีวรรณ คมสัน ภายยเดช แสงเพ็ชร งอนชัยภูมิ ป้องภัยรี มีสมบัติ สมิง เติมพรมราช "อุปกรณ์ควบคุมการ

เคลื่อนที่ก้านสูบของไมโครไซริงห์” ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 11 มิถุนายน 2547 ได้รับสิทธิบัติเมื่อเดือนเมษายน 2550

10.2. รังสรรค์ พาลพ่าย วิศิษฐิพร สุขสมบัติ อาวุธ อินทรชื่น อุดมวิทย์ มณีวรรณ คมสัน ภาษยเดช แสงเพ็ชร งอนชัยภูมิ ป้องภัยรี มีสมบัติ สมิง เติมพรมราช ชุติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ วิชัย ศรีสุรักษ์ “เครื่องเชื่อมเซลล์ด้วยไฟฟ้ากระแสตรง” ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 11 มิถุนายน 2547

ผศ.ดร. มารินา เกตุทัต คาร์นส์

1. ชื่อ (ไทย) ผศ.ดร. มารินา เกตุทัต คาร์นส์
   (อังกฤษ) Assistant Professor Dr. Mariena Ketudat Cairns
2. รหัสประจำตัวนักวิจัยแห่งชาติ (ถ้ามี) 38-40-0999

   บัตรประจำตัวประชาชนเลขที่ 3 1014 01120 08 7
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. สถานที่ติดต่อ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักเทคโนโลยีเกษตร

   มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

   เลขที่ 111 ถนนมหาวิทยาลัย อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

   โทรศัพท์.044-224-355

   โทรสาร 044-224-150

   E-mail: ketudat@ccs.sut.ac.th
5. ประวัติการศึกษา

   พ.ศ. 2531 วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา)
   มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

   พ.ศ. 2538 Ph.D. (Biological chemistry)
   University of California, San Diego, USA
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญ/สนใจพิเศษ

   Molecular Biology, Molecular Genetics, Recombinant Protein production
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย เป็นต้น

   7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย: –

   7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย:

   7.2.1 Production of Tilapia Transglutaminase, หัวหน้าโครงการ

   7.2.2 Expression of β-glucosidase from Thai Plants in *Pichia pastoris,* หัวหน้าโครงการ

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว:

7.3.1 Functional Analysis of the Maize bZIP Protein Opaque-2, ผู้ร่วมวิจัย NIH, USA แล้วเสร็จ 1994

7.3.2 Purification of the Enzyme Taq DNA Polymerase หัวหน้าโครงการ NSTDA แล้วเสร็จ 1998

7.3.3 Tilapia Sex Chromosome Identification Using DNA Probe, หัวหน้าโครงการ NSTDA แล้วเสร็จ 2000

7.3.4 Clonal Selection of Sweet Bamboo for Commercial and Industrial Uses, ผู้ร่วมวิจัย แล้วเสร็จ 2002

7.3.5 Molecular identification of Dendrocalamus asper from SUT farm, หัวหน้าโครงการ NRCT แล้วเสร็จ 2003

7.3.6 Genetic, Mophology and Behavior Characterization in Thai Native Fowl, หัวหน้าโครงการ CP 2004

ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่

Singhapol, C. and Ketudat-Cairns, M. (2003) Microsarellite Polymorphism in Thai Native Fowl (*Gallus gallus domesticus*) Proceeding of the 10th Tri-University International Joint Seminar & Symposium 2003, Role of Asia in the World, Oct. 18-21 Mie Univ., Tsu, Mie, Japan

Chumnarnsilpa, S., Boonkerd, N. and Ketudat-Cairns, M. (2003) (in preparation) Growth Kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* K1-V1116 and Killer toxin production in Winemaking

Srilunchang, K. and Ketudat-Cairns, M. (2003) (in preparation) Genetic relationship and molecular marker identification of *Dendrocalamus asper* in Thailand

Charoenrat, T. and Ketudat-Cairns (2003) Influence of pH on Recombinant β-glucosidase Production by *Pichia pastoris* Poster presentation BioThailand 2003 Technology for Life 17-20 July, Pattaya, Thailand

Loonchanta, A. and Ketudat-Cairns (2003) Primer Design for Amplification of Transglutaminase Gene from Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Poster presentation BioThailand 2003 Technology for Life 17-20 July, Pattaya, Thailand

Singhapol, C. and Ketudat-Cairns, M. (2003) Microsarellite Polymorphism in Thai Native Fowl (*Gallus gallus domesticus*).. Poster presentation BioThailand 2003 Technology for Life 17-20 July, Pattaya, Thailand

Loonchanta, A., Chumnarnsilpa S., and Ketudat-Cairns, M. (2002) Comparison of recombinant β-glucosidase production by *Pichia pastoris* in stirred and air-lift bioreactor. Proceeding the 14th annual meeting of Thai Society for Biotechnology 13-15 Nov. Khonkan Thailand (Oral presentation)

Srilunchang, K. and Ketudat-Cairns, M. (2002) The study of genetic relationship and molecular marker identification of SUT *Dendrocalamus asper* Proceeding the 14th annual meeting of Thai Society for Biotechnology 13-15 Nov. Khonkan Thailand (poster presentation)

Manatrinon S., Na Lampang P., Likitdecharote B., Phalaraksh K., Ketudat-Cairns M. and Duangjinda M. The Association of the Bovine Lymphocyte Antigen DRB3.2 (BoLA-DRB3.2) Alleles with Occurrence of Clinical Mastitis in Dairy Cattle Proceeding the 14th annual meeting of Thai Society for Biotechnology 13-15 Nov. Khonkan Thailand (Oral presentation)

Chumnarnsilpa, S., Ketudat-Cairns, M. and Boonkerd, N. (2001) Growth kinetic of *Saccharomyces cerevisiae* K1-V1116 and killer toxin production in wine making Poster presentation, Biothailand, , 7-10 Nov, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand

Srilunchang, K. and Ketudat-Cairns, M. (2001) The study of genetic relationship and molecular marker identification of SUT *Dendrocalamus asper* Poster presentation, Biothailand, 7-10 Nov, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand

Srilunchang, K., Khumlert, R. and Ketudat-Cairns, M. (2001) The study of genetic relationship and molecular marker identification of SUT *Dendrocalamus asper.* Poster presentation, Second Graduate conference, Mahidol University, Bangkok

Kanchanatawee, S., Wanapu, C. and Ketudat-Cairns, M. (2000) Biotechnology Graduate Education in Thailand. Thai J. of Biot 2 (1): 55-62

Ngamjun, P., Teaumroong, N., Boonkerd, N., and Ketudat-Cairns, M. (2000). Tilapia sex chromosome identification DNA probe. First National Symposium on Grad-Research Chiang Mai University 10-11 June 2000, P206-211.

Carlini, L.E., M. Ketudat, R.L. Parsons, S. Prabhakar, R. J. Schmidt and M. J. Guiltinan (1999) The maize bZIP protein orthologue of EmBP-1: Activation of gene expression in yeast from an O2 box and localization of a bipartite nuclear localization signal (NLS). Plant Molec. Biol.41: 339-349. (M. Ketudat and L. Carlini are Co-first authors)

Ngamjan, P., Boonanantanasarn, S. and Ketudat-Cairns, M. (1999) Tilapia Sex Chromosome Identification using DNA Probe. Poster presentation, The 5th Asia-Pacific Biochemical Engineering Conference, Phuket, Thailand

Ketudat-Cairns, M. (1998) Biotechnology and Daily Life. Suranaree J. Sci Technol 5:208-211

Manakasem Y., Sornsuk P., and Ketudat-Cairns M. (1998) A survey of the Status and Problems of the Vegetable and Fruit Production and Post-Harvest Handling System in Nakhon Ratchasima Province. Suranaree J. Sci Technol 5:95-100

Ketudat-Cairns, M. Boonanantanasarn, S. and Ngamjan, P. (1998) Paper presentation The Development of Tilapia Sex chromosome Identification System, Biotech forum, Biotechnology for Aquaculture National Science and Technology Development Agency, Bangkok Thailand.

Ketudat-Cairns, M. (1998) Biotechnology and Daily Life. Suranaree *J. Sci Technol* 5:208-211

Manakasem Y., Sornsuk P., and Ketudat-Cairns M. (1998) A survey of the Status and Problems of the Vegetable and Fruit Production and Post-Harvest Handling System in Nakhon Ratchasima Province. *Suranaree J. Sci Technol* 5:95-100

Schmidt, R. J., Pysh, L. D., Ketudat, M., Parsons, R. L., and Hoschek, G. (1994) bZIP Proteins Regulating Gene Expression in Maize Endosperm. In *Molecular Genetic Analysis of Plant Metabolism and Development* (G. Coruzzi and P. Puigdomenech, eds.) NATO ASI Proceedings

Schmidt, R. J., Ketudat, M., Aukerman, M. J., and Hoschek, G. (1992) Opaque-2 is a Transcriptional Activator that Recognizes a Specific Target Site in 22-kD Zein Genes. *Plant Cell* 4:701-709

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ:

7.4.1 Production of Tilapia Transglutaminase, หัวหน้าโครงการ

7.4.2 Expression of beta-glucosidase from Thai Plants in *Pichia pastoris*, หัวหน้าโครงการ

นายสัตวแพทย์ อนวัช แสงมาลี

1. ชื่อ (ภาษาไทย) : นาย. อนวัช แสงมาลี

   (ภาษาอังกฤษ) : Mr. Anawat Sangmalee

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 2502 00123 59 1

3. ตำแหน่งปัจจุบัน นักศึกษาปริญญาเอก สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

   มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้

   ที่ทำงาน: ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีตัวอ่อนและเซลล์ต้นกำเนิด

   111 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ต.สุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

   โทรศัพท์ 044-224 154 โทรสาร 044-223 285

   ที่อยู่บ้าน: 250/1 หมู่ 6 หมู่บ้านสุรสวัสดิ์แลนด์ ต.สุรนารี อ. เมือง จ.นครราชสีมา 30000

   E-mail: anawat.vet@gmail.com

5. ประวัติการศึกษา

   5.1 ปริญญาตรี สาขาวิชา สัตวแพทยศาสตร์ ปีที่จบ 2548

   สถาบัน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย

   5.2 ประกาศนียบัตรบัณฑิตศึกษา หลักสูตร โรคและการจัดการสุขภาพในฟาร์มโคนม ปีที่จบ2549

   สถาบัน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย

6. สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ

   -

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ :

   7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย - ไม่มี -

   7.2 ผู้ร่วมวิจัย