อภิษฎา คล่องแคล่ว : การผลิตเซลล์ตั้งต้นประสาทจากเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงชนิดธรรมดาและชนิดตัดต่อพันธุกรรมโปรตีนเอพีพีและเทา (NEURAL PROGENITOR CELL LINES DERIVATION FROM WILD-TYPE AND TRANSGENIC APP/TAU RHESUS MONKEY EMBRYONIC STEM CELLS) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย, 119 หน้า.

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยคือการพัฒนาวิธีการผลิตเซลล์ตั้งต้นประสาท พร้อมทั้งและศึกษาผลของวิธีการผลิตเซลล์ตั้งต้นประสาทและศึกษาคุณสมบัติเซลล์ตั้งต้นประสาทที่ได้หลังจากการเปลี่ยนแปลงจากเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของลิงชนิดธรรมดา และชนิดตัดต่อพันธุกรรมโปรตีนเอพีพีและเอพีพี /เทา ซึ่งเซลล์ที่ตัดต่อพันธุกรรมนี้จะใช้เป็นเซลล์จำลองของโรคอัลไซเมอร์ โดยการทดลองนี้เริ่มจากการชักนำให้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของลิงชนิดธรรมดาให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ตั้งต้นประสาทด้วยวิธีการที่แตกต่างกันสองวิธี ได้แก่ วิธีที่เริ่มต้นจากการเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนแบบไม่มีเซลล์พี่เลี้ยง (feeder-free based method) และวิธีการชักนำเซลล์ตั้งต้นประสาทผ่านทางเอ็มบริออยบอดี (embryoid body; EB) (EB-based method) ซึ่งผลการศึกษาพบว่าเซลล์ตั้งต้นประสาทจากทั้งสองวิธีมีลักษณะของเซลล์ที่คล้ายกัน ทั้งทางสัณฐานวิทยาของเซลล์และการแสดงออกของยีนที่จำเพาะ นอกจากนี้ทั้งสองวิธียังสามารถผลิตเซลล์ตั้งต้นประสาทได้ปริมาณมาก (>97% ของประชากรเซลล์ทั้งหมด), ไม่มีการปนเปื้อนของเซลล์ที่ไม่ใช่เซลล์ประสาท (เซลล์จากมีโซเดิร์มและเอ็นโดเดิร์ม), และเซลล์มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ประสาทที่สมบูรณ์ได้ อย่างไรก็ดีพบการแสดงออกของยีนจีเอฟเอพี (Glial fibrillary acidic protein; GFAP) ในระดับที่สูงมากในเซลล์ตั้งต้นประสาทที่ได้จากวิธี feeder-free based method นอกจากนี้การศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ลิฟ (leukemia inhibitory factor; LIF) เป็นส่วนประกอบหนึ่งของน้ำยาเลี้ยงเซลล์ตั้งต้นประสาท ซึ่งมีรายงานว่า ลิฟสามารถกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตั้งต้นปร ะสาทหนูไปเป็นเซลล์แอสโตรไซส์ (astrocyte) ได้ การศึกษานี้ไม่พบว่าวิธีการชักนำที่ต่างกันมีผลต่อการแสดงออกของลิฟรีเซปเตอร์ (LIF receptor) แต่ร ะดับการแสดงออกของยีนจีเอฟเอพีที่แตกต่างกันนั้นสอดคล้องกับการแสดงออกยีนทีแอลเอ็ก (nuclear receptor tailless; TLX) ซึ่งเซลล์ตั้งต้นประสาทจากวิธี feeder-free based method มีระดับการแสดงออกของทีแอลเอ็กต่ำ และอาจทำให้เซลล์ตั้งต้นประสาทจากวิธีนี้มีแนวโน้มที่จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์แอสโตรไซส์ หรือมีผลต่อความเป็นเอกพันธุ์ (homogeneity) ของประชากรเซลล์ตั้งต้นปร ะสาท นอกจากนี้วิธีการ EB-based method ยังสามารถชักนำให้เกิดเซลล์ตั้งต้นประสาทจากเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนชนิดตัดต่อพันธุกรรมโปรตีนเอ

พีพีและเอพีพี/เทา ซึ่งเซลล์ตั้งต้นประสาทจากเซลล์ชนิดตัดต่อพันธุกรรมนี้ สามารถแสดงลักษณะของเซลล์ตั้งต้นประสาท อย่างเช่น สัณฐานวิทยาของเซลล์ การแสดงออกของยีนจำเพาะ และคุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ประสาท ได้เช่นเดียวกับเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของลิงชนิดธรรมดา ในการศึกษานี้ยังคงพบความสอดคล้องกันของระดับการแสดงออกของยีนจีเอฟเอพีและยีนทีแอลเอ็ก และจากการตรวจสอบการแสดงออกของยีนเอพีพี และยีนเทา พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของยีนทั้งสองเมื่อเซลล์เปลี่ยนจากเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนไปเป็นเซลล์ตั้งต้นประสาทและเซลล์ประสาท แต่ไม่พบความแตกต่างกันของเซลล์ระหว่างเซลล์ชนิดธรรมดากับเซลล์ชนิดตัดต่อพันธุกรรม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ปีการศึกษา 2558 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

APITSADA KHLONGKHLAEO : NEURAL PROGENITOR CELL LINES DERIVATION FROM WILD-TYPE AND TRANSGENIC APP/TAU RHESUS MONKEY EMBRYONIC STEM CELLS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. RANGSUN PARNPAI, Ph.D., 119 PP

NEURAL PROGENITOR CELL/ NEURAL PROGENITOR CELL DERIVATION/ EMBRYONIC STEM CELL/ NON-HUMAN PRIMATE

The objectives of this research were to develop and establishment neural progenitor cell (NPC) lines and to study the influence and the capacity of NPC derivation methods on the properties of NPCs derived from wild type, and transgenic APPs/tau rhesus monkey (*Macaca mulatta*) embryonic stem cells (rhESCs). The NPCs were obtained from the common NPC derivation protocols: feeder-free and EB-based methods. The NPCs from both protocols shared the similar morphology and gene expression profiles. They were able to provide a high yield (>97%) of NPC population, and no contamination of non-neural lineage cells (mesoderm and endoderm), as well as the potential to differentiate into mature neurons *in vitro*. Interestingly, the elevated expression of Glial fibrillary acidic protein (GFAP) was exhibited in NPCs derived from the feeder-free method. In this study, the leukemia inhibitory factor (LIF) was used as a component in the neural proliferation medium. Although, it has been reported to promote the astrocyte differentiation of NPCs in mice, this study showed that the different NPC induction protocols did not affect the expression of LIF receptor. The enhanced GFAP expression was correlated with the reduced expression of nuclear receptor tailless (TLX). This suggested their higher tendency to differentiate

toward astrocyte lineage or heterogeneity of NPCs in the feeder-free method. Moreover, the EB-based induction protocol was able to induce the NPC differentiation of the transgenic (tg) APPs, and transgenic APPs/human tau ESCs. The tg ES cell lines had the ability to differentiate into NPC cell lines possessing various similar properties to the wild type such as morphology, gene expression, and neural differentiation potential. Additionally, this study showed the correlation between GFAP and TLX expressions in NPCs. Although, the gene expression analysis of tg APP mutations in NPCs and neurons revealed the elevated expression of total SwAPP and IndAPP transcription as well as human tau compared to ESCs, the difference of tg APPs NPCs and neuron compared to wild type could not be detected in this study.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Biotechmology Student's Signature _____

Academic Year 2015 Advisor's Signature _____