



รายงานการวิจัย

โครงการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จาก  
เนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน  
และการปลูกถ่ายให้หนูตะเภาที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อม

Induction of human Wharton's jelly of umbilical cord derived  
mesenchymal stem cells to be chondrocytes and transplantation  
in guinea pigs model with spontaneous osteoarthritis

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



## รายงานการวิจัย

โครงการเหนียวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จาก  
เนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน  
และการปลูกถ่ายให้หนูตะเภาที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อม

Induction of human Wharton's jelly of umbilical cord derived  
mesenchymal stem cells to be chondrocytes and transplantation  
in guinea pigs model with spontaneous osteoarthritis

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ผู้ร่วมวิจัย

รศ.ดร. มารินา เกตุทัต-คาร์นส์

ดร. สุเมธ อัมสุนทรรักษา

สพญ. รังสิรัตน์ วงสรรค์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2562

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

ตุลาคม 2563

## กิตติกรรมประกาศ

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

.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย)

หัวหน้าโครงการวิจัย

ตุลาคม 2663



## บทคัดย่อภาษาไทย

สายรกมนุษย์จำนวน 2 ตัวอย่าง จากผู้บริจาค ถูกนำมาแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ได้สำเร็จ ได้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จำนวน 2 สายพันธุ์ เซลล์ทั้งสองสายพันธุ์ถูกนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ได้แก่ โปรตีนที่ผิวเซลล์ การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่น (เซลล์กระดูก เซลล์ไขมัน และ เซลล์กระดูกอ่อน) พบว่ามีเซลล์สายพันธุ์เดียวที่มีคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่เหมาะสม ในการศึกษาการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อนจึงสามารถนำเซลล์สายพันธุ์นี้ไปใช้ในการศึกษาได้ เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติผ่านเกณฑ์มาตรฐานของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ และมีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์กระดูกอ่อนได้ดี ยืนยันได้จากผลการย้อมสี Alcian blue ซึ่งจะย้อมติดสี extracellular matrix ของเซลล์กระดูกอ่อน ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์สายพันธุ์นี้ย้อมติดสี Alcian blue เข้มมากหลังการเพาะเลี้ยงในน้ำยาเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์กระดูกอ่อนเป็นระยะเวลา 21 วัน



## Abstract

Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells (WJ-MSCs) were successfully isolated from the two samples of human umbilical cords. Two cell lines of the WJ-MSCs were obtained and were characterized. The analyzed characteristics included colony forming unit (CFU), population doubling time (PDt), surface protein expression, and differentiation potencies into three cell lineages (adipogenic, chondrogenic, and osteogenic differentiations). The results revealed that only one cell line exhibited appropriate mesenchymal stem cell characteristics and it was recruited in the study of corneal epithelial differentiation. In the chondrogenic differentiation induction, this cell line can be used in the experiment because it qualifies the standard mesenchymal stem cell characteristics and has good chondrogenic differentiation potential. According to the Alcian blue staining of chondrocyte extracellular matrix, the results showed that this cell line was strongly positive with Alcian blue staining after culture in the induction medium for 21 days.

## 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 .....	1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย .....	1
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 .....	5
2.3 ผลกระทบของโครงการที่มีต่อสังคม ในรูปแบบของการกระจายรายได้ (Income distribution) และการแก้ไขปัญหาของชุมชน .....	5
2.3.1 ความต้องการของชุมชน/ปัญหาของชุมชน .....	5
2.3.2 ผลกระทบที่เกิดจากงานวิจัยในรูปแบบของการลดผลกระทบทางลบ หรือขยายผลกระทบทางบวก .....	6
3 วิธีการดำเนินการวิจัย .....	7
3.1 การเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीสายรกมนุษย์ .....	7

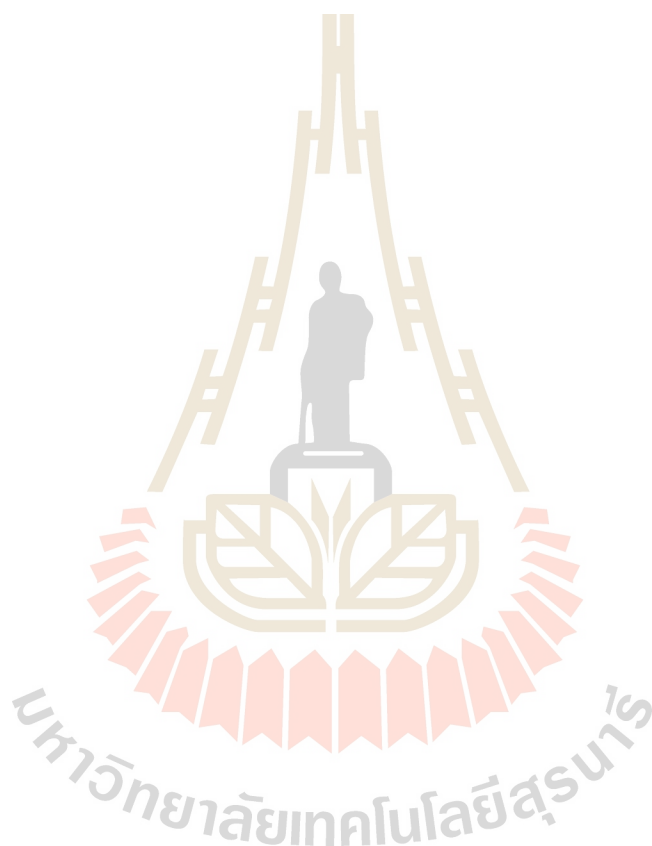
## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2 การตรวจสอบคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ .....	7
3.2.1 การเลี้ยงเซลล์และการตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ (Colony forming unit (CFU) assay).....	7
3.2.2 การตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Population doubling time, PDT).....	7
3.2.3 การตรวจสอบโปรตีนที่ผิวเซลล์ด้วยวิธีโฟลไซโทเมทรี (Flow cytometry).....	8
3.2.4 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่างๆ .....	9
4 ผลการดำเนินงานวิจัย.....	11
4.1 ผลการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่ออวัยวะต้นเจดลี.....	11
4.1.1 ผลการตรวจสอบการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ (Colony forming unit (CFU)).....	11
4.1.2 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า .....	12
4.1.3 การตรวจสอบโปรตีนที่ผิวเซลล์ด้วยวิธีโฟลไซโทเมทรี .....	13
4.2 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ .....	15
5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	17
บรรณานุกรม.....	19
ประวัติผู้วิจัย.....	22

ฉ  
สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์จากการวิเคราะห์โดยวิธีโฟลไซโตเมทรี.....14





ช  
สารบัญญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ของเซลล์สายพันธุ์ MSC01 และ MSC07 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 .....	11
รูปที่ 2 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์ (a) MSC01 และ (b) MSC07.....	12
รูปที่ 3 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธีโพลไซโตเมทรีของเซลล์สายพันธุ์ MSC01 .....	13
รูปที่ 4 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธีโพลไซโตเมทรีของเซลล์สายพันธุ์ MSC07 .....	14
รูปที่ 5 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC01 .....	15
รูปที่ 6 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC07 .....	16

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ภาวะข้อเข่าเสื่อม เป็นโรคที่พบในผู้สูงอายุเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังพบในผู้ที่มีภาวะโรคอ้วน และในกลุ่มอาชีพที่มีการออกแรงใช้ข้อเข่ามากอีกด้วย ซึ่งสาเหตุของโรคมมาจากทั้งปัจจัยที่เกิดและไม่ได้เกิดจากพันธุกรรม โดยเริ่มจากการเสื่อมสภาพของ Articular cartilage นำมาซึ่งการก่อให้เกิดความเจ็บปวด, ความบกพร่องในการทำหน้าที่ของกระดูกในบริเวณนั้น และการเกิดความยากลำบากในการใช้ชีวิตประจำวัน ปัจจุบันโรคนี้มีแนวทางในการรักษา ประกอบด้วย การรักษาทางยา, การทำกายภาพบำบัด และการทำศัลยกรรม โดยการเลือกแนวทางในการรักษาจะขึ้นอยู่กับดุลยพินิจของแพทย์ผู้เชี่ยวชาญและความรุนแรงของโรค แต่แม้จะได้รับการรักษาแล้ว ผู้ป่วยก็มีโอกาสที่จะกลับมาเป็นซ้ำได้ รวมทั้งการรักษาโดยการศัลยกรรมอาจทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนจากการรักษาได้อีกด้วย จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीจากสายรกมนุษย์ เป็นแหล่งของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (mesenchymal stem cells; MSCs) ที่พบเป็นจำนวนมากในร่างกายมนุษย์ โดยเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์เป็นเซลล์ที่มีความสามารถในการเหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อนและเซลล์อื่น ๆ ซึ่งในปัจจุบัน การรักษาโดยการใช้เซลล์กระดูกอ่อนจัดเป็นทางเลือกหนึ่ง นอกเหนือจากการรักษาโดยใช้ยา, การทำกายภาพบำบัด และการผ่าตัดในผู้ป่วยที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อม

ดังนั้นในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยจะทำการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน และปลูกถ่ายเซลล์กระดูกอ่อนที่ได้จากการเหนี่ยวนำให้หนูตะเภาที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อม จากนั้นดำเนินการติดตามผลหลังการปลูกถ่าย เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของกระบวนการนี้ โดยข้อมูลที่ได้จากการวิจัยจะเป็นแนวทางที่ก่อให้เกิดประโยชน์ในทางการแพทย์ต่อไป

### 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อคัดแยกและเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीจากสายรกของมนุษย์
2. เพื่อเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน
3. เพื่อนำเซลล์กระดูกอ่อนที่ได้จากการเหนี่ยวนำไปปลูกถ่ายให้กับหนูตะเภาที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อม

### 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ดำเนินการคัดแยกและเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीของสายรกมนุษย์ จากนั้นทำการตรวจสอบคุณสมบัติของการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ แล้วจึงดำเนินการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน และตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์กระดูกอ่อน จากนั้นทำการปลูกถ่ายเซลล์กระดูกอ่อนที่ได้จากการเหนี่ยวนำให้กับหนูตะเภาที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อม และดำเนินการติดตามผลหลัง

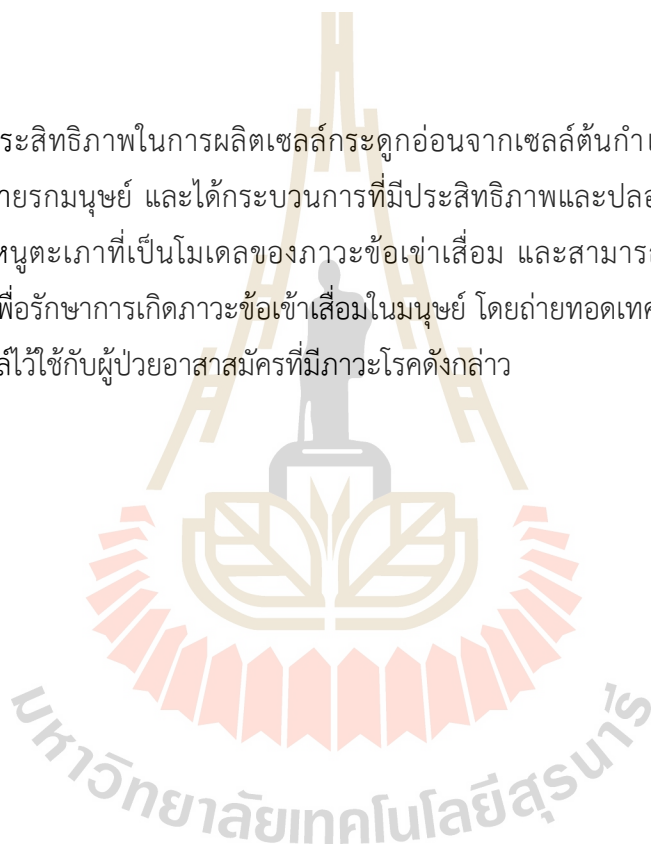
การปลูกถ่ายด้วยวิธีตรวจสอบด้วยตาเปล่า (Macroscopic examination) ตรวจสอบทาง histology และ immunohistochemistry และการวิเคราะห์ Immunoblot

#### 1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

ภาวะข้อเข่าเสื่อม เป็นโรคที่พบในผู้สูงอายุเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังพบในผู้ที่มีภาวะโรคอ้วน และในกลุ่มอาชีพที่มีการออกแรงใช้ข้อเข่ามากอีกด้วย ความบกพร่องในการทำหน้าที่ของกระดูกในบริเวณนั้น นำมาซึ่งการก่อให้เกิดความเจ็บปวด และเกิดความยากลำบากในการใช้ชีวิตประจำวัน ในการวิจัยนี้จึงได้มีการนำเซลล์กระดูกอ่อนที่ได้จากการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीของสายรกมนุษย์มาใช้ในการปลูกถ่ายให้หนูตะเภาที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อม โดยวิธีการนี้จะเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการรักษาภาวะข้อเข่าเสื่อมของมนุษย์

#### 1.5 เป้าหมายการวิจัย

ได้กระบวนการที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเซลล์กระดูกอ่อนจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीของสายรกมนุษย์ และได้กระบวนการที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยในการปลูกถ่ายเซลล์กระดูกอ่อนในการรักษาหนูตะเภาที่เป็นโมเดลของภาวะข้อเข่าเสื่อม และสามารถนำองค์ความรู้เหล่านี้ ไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์เพื่อรักษาการเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมในมนุษย์ โดยถ่ายทอดเทคโนโลยี ให้กับโรงพยาบาลที่มีความพร้อม เพื่อผลิตเซลล์ไว้ใช้กับผู้ป่วยอาสาสมัครที่มีภาวะโรคดังกล่าว



## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ สามารถพบได้หลายแหล่ง อาทิเช่น ในไขกระดูก, ในกล้ามเนื้อลาย, ที่ผิวหนัง, ในเลือด, เนื้อเยื่อไขมัน และในโพรงฟัน เป็นต้น นอกจากนี้ ยังพบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์เป็นจำนวนมากที่เนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीในสายรกอีกด้วย นิยามของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ทาง Mesenchymal and Tissue Stem Cell Committee of the International Society for Cellular Therapy (ISCT) ได้ให้คำจำกัดความไว้ว่า เป็นเซลล์ที่สามารถแพร่และขยายจำนวนได้เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสม และเซลล์เหล่านี้จะต้องแสดงออกต่อโปรตีนบนพื้นผิวของเซลล์ CD73, CD90 และ CD105 และไม่แสดงออกต่อโปรตีนบนพื้นผิวของเซลล์ CD34 และ CD45 เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ยังมีคุณสมบัติที่สามารถกลายไปเป็นเซลล์กระดูก, เซลล์ไขมัน, และเซลล์กระดูกอ่อนเมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วยสภาวะที่เหมาะสมอีกด้วย (Dominici และคณะ, 2006)

เนื่องจาก เนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीในสายรกรับจัดเป็นแหล่งเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่มีขั้นตอนการเก็บไม่ซับซ้อน สามารถเก็บได้จากหญิงมีครรภ์ภายหลังการคลอดบุตร โดยก่อให้เกิดการบาดเจ็บน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการเก็บเนื้อเยื่อไขกระดูกหรือส่วนอื่น อีกทั้งยังมีความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดแบบดั้งเดิมสูง (Troyer และคณะ, 2008) ดังนั้น เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीของสายรกมนุษย์จึงได้รับความสนใจและนำไปพัฒนาทดสอบเพื่อใช้ทางการแพทย์ในอนาคต เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์เป็นรูปแบบหนึ่งของเซลล์ต้นกำเนิดที่มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์จำเพาะชนิดอื่นได้หนึ่งชนิดหรือมากกว่า นอกจากนี้ยังอาจจะสามารถใช้เป็นตัวเลือกหนึ่งในการซ่อมแซม cartilage เนื่องจาก มีความพร้อมในการนำมาใช้เป็น donor site morbidity (Goldberg และคณะ, 2017)

Articular cartilage เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใน synovial joints ที่มีความเฉพาะด้านสูง และประกอบด้วยเซลล์กระดูกอ่อนซึ่งเป็นเซลล์ที่มีความเฉพาะในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันนี้ โดยเซลล์กระดูกอ่อนจะทำหน้าที่ในการสร้าง extracellular matrix (ECM) และคงไว้ซึ่งหน้าที่ของเนื้อเยื่อ (Tanthaisong และคณะ, 2017) ทั้งนี้โดยปกติแล้วการบาดเจ็บในบริเวณ Articular cartilage จะเป็นบริเวณที่ไม่สามารถซ่อมแซมตัวเองได้ เนื่องจากเป็นบริเวณที่ไม่มีหลอดเลือด ไม่มีท่อน้ำเหลืองและไม่มีระบบประสาท (Sophia Fox และคณะ, 2009) ที่ผ่านมา ได้มีการศึกษาถึงการเสื่อมสภาพของ Articular cartilage ซึ่งสามารถก่อให้เกิดอันตรายหลายอย่าง เช่น ความผิดปกติของแผ่นการเจริญเติบโตในเด็ก, การบาดเจ็บที่เกิดจาก trauma-induced และภาวะโรคข้อเสื่อมที่เกิดขึ้นตามอายุขัยของข้อ เช่น การเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อม (Song และคณะ, 2004) ภาวะข้อเข่าเสื่อม เป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติที่มีสาเหตุมาจากปัจจัยหลายอย่าง แบ่งออกเป็น ปัจจัยที่ไม่ได้เกิดจากพันธุกรรม ได้แก่ อายุ, เพศ, ความอ้วน, พฤติกรรม ความเครียด, รูปแบบการดำเนินชีวิตที่มีอยู่กับที่, การได้รับการบาดเจ็บในบริเวณข้อ, กิจกรรมประจำวันที่มาจาก

การประกอบอาชีพของผู้ป่วย และปัจจัยที่เกิดจากพันธุกรรม ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงรูปแบบการแสดงออกของยีนใน cartilage และ subchondral bone

โดยปัจจัยเหล่านี้ สามารถส่งผลกระทบต่อข้อต่ออื่นๆ ในร่างกาย โดยเฉพาะในแขนขา และมือ ซึ่งเป็นข้อที่มีการรับน้ำหนักมากๆ นำไปสู่ การก่อให้เกิดความเจ็บปวดและความบกพร่องในการทำหน้าที่ ซึ่งพบได้ในผู้ใหญ่ อีกทั้งปริมาณการเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมจะเพิ่มมากขึ้นตามอายุและความอ้วน โดยมีการรายงานการเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมของชาวยุโรปกว่า 70 ล้านคน ซึ่งส่งผลให้มีต้นทุนทางตรงเกินกว่า 2 พันล้านยูโร แม้ว่าการเพิ่มขึ้นของการเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมจะเป็นไปอย่างช้าๆ แต่จะนำไปสู่การไม่สามารถทำงานได้อย่างปกติของข้อต่อในที่สุด เนื่องจาก cartilage มีความสามารถในการสร้างใหม่ที่ต่ำ ซึ่งข้อมูลนี้มาจาก World Health Organization (WHO) Global Burden of Disease Study 2010 และในการประชุมครั้งที่ 11 ได้มีการรายงานถึงการเกิดภาวะข้อเข่าและสะโพกเสื่อมซึ่งเป็นสาเหตุที่นำไปสู่ความพิการ (Cucchiari และคณะ, 2016)

หนูตะเภาสายพันธุ์ Dunkin-Hartley ถูกนำมาใช้ในการศึกษาภาวะการเสื่อมของ cartilage ในข้อเข่า ซึ่งมีลักษณะเหมือนกันกับการเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมในมนุษย์ (Abbud Lozoya และคณะ, 2000; Hayami และคณะ, 2004; Hayami และคณะ, 2006) โดยข้อเข่าของหนูตะเภา จะมีลักษณะคล้ายคลึงกับข้อเข่าของมนุษย์แต่มีขนาดเล็กกว่า นอกจากนี้ หนูตะเภายังมีข้อได้เปรียบในการนำมาใช้เป็น translational model กล่าวคือ จุลพยาธิวิทยาของหนูตะเภาที่มีลักษณะคล้ายคลึงเป็นพิเศษกับการเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมในมนุษย์ (Jimenez และคณะ, 1997; Kraus และคณะ, 2010) อีกทั้งหนูตะเภายังเป็นสัตว์ที่มีแนวโน้มการเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมขึ้นเองตามธรรมชาติ โดยหนูตะเภาสายพันธุ์ Dunkin-Hartley (Bendele และคณะ, 1988) ถือเป็นสายพันธุ์ที่มีการนำมาใช้มากที่สุด (Huebner และคณะ, 2002) และโดยตามธรรมชาติแล้ว หนูตะเภาจัดเป็นสัตว์ที่มีความแข็งแรงจึงทำให้ง่ายต่อการนำมาใช้ นอกจากนี้หนูตะเภายังถูกนำมาใช้เป็น animal model สำหรับการประเมินความเป็นไปได้ในการรักษาด้วยวิธีการใหม่ๆ ได้แก่ RNA interference (Santangelo และคณะ, 2011) gene therapy (Ikeda และคณะ, 1998) และ human mesenchymal stem cells (Gregory และคณะ, 2012; Sato และคณะ, 2012)

ซึ่งจากการทดลองของ Sato และคณะ (2012) ได้แสดงให้เห็นว่าการฉีดเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ กับ HA (Hyaluronic acid) เข้าสู่ articular cartilage ของหนูตะเภา เป็นวิธีการหนึ่งซึ่งก่อให้เกิดผลดีและมีความเป็นไปได้ในการใช้รักษาภาวะข้อเข่าเสื่อม จากข้อมูลทั้งหมดดังที่กล่าวข้างต้น ผู้วิจัยได้เล็งเห็นถึงความสำคัญในการนำความรู้ด้าน stem cell มาใช้ในการรักษา โดยการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่ออวัยวะต้นเจดลีของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อนและทำการปลูกถ่ายให้กับหนูตะเภาที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อม

## 2.2 ศักยภาพองค์ความรู้เทคโนโลยีและนวัตกรรมที่จะพัฒนา

### 2.2.1 ขนาดและแนวโน้มของตลาด/โอกาสทางการตลาด

ปัจจุบัน ประเทศไทยเริ่มเข้าสู่สังคมของผู้สูงอายุ ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเพิ่มขึ้นของภาวะข้อเข่าเสื่อมในมนุษย์ เนื่องจากโรคนี้นับเป็นผู้สูงอายุเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังพบในผู้ที่มีภาวะโรคอ้วน และในกลุ่มอาชีพที่มีการออกแรงใช้ข้อเข่ามากอีกด้วย ซึ่งแนวทางในการรักษาภาวะข้อเข่าเสื่อม ประกอบด้วย การรักษาทางยา, การทำ

กายภาพบำบัด และการทำศัลยกรรมโดยขึ้นอยู่กับความรุนแรงและอาการของโรค โดยการเลือกแนวทางในการรักษาจะขึ้นอยู่กับดุลยพินิจของแพทย์ผู้เชี่ยวชาญและความรุนแรงของโรค แต่แม้จะได้รับการรักษาแล้ว ผู้ป่วยก็มีโอกาสที่จะกลับมาเป็นซ้ำได้ รวมทั้งการรักษาโดยการศัลยกรรมอาจทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนจากการรักษาได้อีกด้วย ซึ่งจากแนวทางในการรักษาดังกล่าว ส่งผลให้มีค่ารักษาในทางพยาบาลค่อนข้างสูง ผู้วิจัยเล็งเห็นถึงความสำคัญและผลกระทบต่อสังคมที่อาจจะเกิดขึ้นจากภาวะข้อเข่าเสื่อมนี้ จึงนำไปสู่การวิจัยเพื่อหาแนวทางการรักษาที่มีประสิทธิภาพและก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อน รวมทั้งความเสี่ยงต่างๆ ต่อตัวผู้ป่วยน้อยที่สุด โครงการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน และการปลูกถ่ายให้หนูตะเภาที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อม จึงเป็นโอกาสที่ดีในการศึกษาและพัฒนาเพื่อเพิ่มแนวทางในการรักษาที่ก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด

### 2.2.2 ลักษณะเฉพาะ/ความใหม่ของผลงานวิจัยที่แตกต่างจากที่มีในปัจจุบัน

เนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीจากสายรกมนุษย์ เป็นแหล่งของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่พบเป็นจำนวนมากในร่างกายนมนุษย์ ที่มีขั้นตอนการเก็บไม่ซับซ้อน สามารถเก็บได้จากหญิงมีครรภ์ภายหลังการคลอดบุตร โดยเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ เป็นเซลล์ที่มีความสามารถในการเหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อนและเซลล์อื่น ๆ โดยในปัจจุบัน การรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อมโดยการใช้เซลล์กระดูกอ่อนจัดเป็นทางเลือกหนึ่ง นอกเหนือจากการรักษาโดยใช้ยา, การทำกายภาพบำบัด และการผ่าตัด การวิจัยนี้จึงนำไปสู่การได้มาซึ่งกระบวนการที่มีประสิทธิภาพและแนวทางการรักษาที่น่าสนใจในการนำไปใช้รักษาภาวะข้อเข่าเสื่อมในมนุษย์ที่มีอัตราเพิ่มมากขึ้นนอกจากนี้ยังมีขั้นตอนในการรักษาและมีความเสี่ยงน้อยกว่า เมื่อเทียบกับการรักษาโดยการศัลยกรรม โดยการศึกษาในครั้งนี้ องค์กรความรู้ที่ได้จะถูกนำไปถ่ายทอดให้กับบุคลากร และนักวิจัยทางด้านการศึกษาในหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยและพัฒนาต่อยอดเพื่อการรักษาในมนุษย์ รวมถึงการนำไปตีพิมพ์และเสนอผลงานในงานประชุมวิชาการหรือสถาบันวิจัยที่เกี่ยวข้องต่างๆ เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดและแพร่หลาย

## 2.3 ผลกระทบของโครงการที่มีต่อสังคม ในรูปแบบของการกระจายรายได้ (Income distribution) และการแก้ไขปัญหาของชุมชน

### 2.3.1 ความต้องการของชุมชน/ปัญหาของชุมชน

ภาวะข้อเข่าเสื่อม เป็นโรคที่พบในผู้สูงอายุเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังพบในผู้ที่มีภาวะโรคอ้วน และในกลุ่มอาชีพที่มีการออกแรงใช้ข้อเข่ามากอีกด้วย ความบกพร่องในการทำหน้าที่ของกระดูกในบริเวณนั้น นำมาซึ่งการก่อให้เกิดความเจ็บปวด และเกิดความยากลำบากในการใช้ชีวิตประจำวัน นอกจากนี้ได้มีการรายงานถึง การเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมของชาวยุโรปกว่า 70 ล้านคน ซึ่งส่งผลให้มีต้นทุนทางตรงเกินกว่า 2 พันล้านยูโร แม้ว่าการเพิ่มขึ้นของการเกิดภาวะข้อเข่าเสื่อมจะเป็นไปอย่างช้าๆ แต่จะนำไปสู่การไม่สามารถทำงานได้อย่างปกติของข้อต่อในที่สุด เนื่องจากกระดูกอ่อนมีความสามารถในการสร้างใหม่ที่ต่ำ ซึ่งข้อมูลนี้มาจาก World Health Organization (WHO) Global Burden of Disease Study 2010 และในการประชุมครั้งที่ 11 ได้มีการรายงานถึงการเกิดภาวะข้อเข่าและสะโพกเสื่อมซึ่งเป็นสาเหตุที่นำไปสู่ความพิการ (Cucchiari และคณะ, 2016) ในการ

วิจัยนี้จึงได้มีการนำเซลล์กระดูกอ่อนที่ได้จากการเหนียวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่ออวัยวะต้น  
 เจลลี่ของสายรกมนุษย์มาใช้ในการปลูกถ่ายให้หนูตะเภาที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อม โดยวิธีการนี้จะเป็นทางเลือกหนึ่งที่มี  
 ประสิทธิภาพในการรักษาภาวะข้อเข่าเสื่อมของมนุษย์

### 2.3.2 ผลกระทบที่เกิดจากงานวิจัยในรูปแบบของการลดผลกระทบทางลบ หรือขยายผลกระทบ

#### ทางบวก

ได้วิธีการที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเซลล์กระดูกอ่อนจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่ออวัยวะต้น  
 เจลลี่ของสายรกมนุษย์ และได้กระบวนการที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยในการปลูกถ่ายเซลล์กระดูกอ่อน เพื่อการ  
 รักษาหนูตะเภาที่เป็นโมเดลของภาวะข้อเข่าเสื่อม และเป็นแนวทางประยุกต์ใช้ทางการแพทย์เพื่อรักษาการเกิด  
 ภาวะข้อเข่าเสื่อมในมนุษย์ โดยถ่ายทอดเทคโนโลยี ให้กับโรงพยาบาลที่มีความพร้อม เพื่อผลิตเซลล์ไว้ใช้กับผู้ป่วย  
 อาสาสมัครที่มีภาวะโรคดังกล่าว



## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 การเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीสายรกมนุษย์

นำสายรกมนุษย์จากผู้บริจาคสุขภาพดีที่ผ่านการลงนามยินยอมจากผู้เข้าร่วมวิจัยตามข้อกำหนดของคณะกรรมการการวิจัยในมนุษย์ของสถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (Ethics Committee for Researches Involving Human Subjects, Suranaree University of Technology) ตามเอกสารรับรองโครงการวิจัยในมนุษย์เลขที่ EC-61-56 นำมาตัดให้มีความยาวชิ้นละ 5 ซม. และล้างเลือดออกด้วยสารละลาย Phosphate-buffered saline (PBS) จากนั้นกำจัดเส้นเลือดและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ออก หลังจากนั้นตัดเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीให้เป็นขนาด 2-5 มม. แล้วนำมาเลี้ยงในน้ำยา alpha modification of Eagle's medium ( $\alpha$ -MEM) ซึ่งประกอบด้วย 2 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin และ 100  $\mu$ g/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 ซึ่งมีเป็นวิธีล่าสุดที่มีประสิทธิภาพในการคัดแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्ली

#### 3.2 การตรวจสอบคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์

##### 3.2.1 การเลี้ยงเซลล์และการตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ (Colony forming unit (CFU) assay)

ทำการเปรียบเทียบการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 (ได้ทำมากกว่าที่อยู่ในข้อเสนอโครงการวิจัย ที่ระบุไว้ว่าจะทำที่ passage 5, 7 และ 10) ในการวิจัยครั้งนี้ได้เปลี่ยนเป็นเลี้ยงเซลล์ตั้งต้นจำนวน 200 เซลล์ด้วยน้ำยาเลี้ยงเซลล์ใน 6-well plate เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยน้ำยาจะถูกเปลี่ยนทุกๆ 2 วัน หลังจากนั้นทำการตรึงเซลล์ด้วย 4% paraformaldehyde (PFA) เป็นเวลา 20 นาที แล้วย้อมสีด้วย 3% crystal violet ทำการนับจำนวนโคโลนีกลุ่มเซลล์ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 2 มม. เพื่อเปรียบเทียบจำนวนโคโลนีที่สร้างทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยเทียบกับจำนวนเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ตั้งต้น โดยคำนวณจากสูตร

$$\% \text{ CFU} = (\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้} \times 100) / \text{จำนวนเซลล์ที่เลี้ยงตั้งต้น}$$

โดยวิเคราะห์สถิติ GraphPad Prism 8 โดยวิธี Two-way ANOVA

##### 3.2.2 การตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Population doubling time, PDT)

นำเซลล์ที่ Passage 4, 5, 6, 7 และ 10 (ได้ทำมากกว่าที่อยู่ในข้อเสนอโครงการวิจัย 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 และนำเซลล์ที่ไม่ได้ยอมไปเลี้ยงต่อแบบเดิมจนถึง Passage ที่ 10 โดยทำทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ แล้วหา PDt ตามสูตร

$$PDt = (t \times \log 2 / (\log N_H - \log N_i))$$

$N_i$  คือจำนวนเซลล์เริ่มต้น

$N_H$  คือจำนวนเซลล์ที่เก็บได้

t คือระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเซลล์ (ชั่วโมง)

### 3.2.3 การตรวจสอบโปรตีนที่ผิวเซลล์ด้วยวิธีฟลูออโรไซโตเมทรี (Flow cytometry)

ตรวจสอบหาคุณสมบัติของการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดด้วยการตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์ที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิด ได้แก่ CD73, CD90 และ CD105 และจะต้องไม่มีการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์ของ CD34 และ CD45 ซึ่งเป็น negative marker โดยเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ passage 5 ในรูปสารแขวนลอยของเซลล์ใน PBS(-) จากนั้นเติมแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนที่ต้องการตรวจสอบโดยเป็นแอนติบอดีที่ติดสารเรืองแสงอยู่แล้ว ที่ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที ต่อมาล้าง 3 ครั้งด้วยบัฟเฟอร์ จากนั้นจึงปั่นเหวี่ยงแยกนำเซลล์ที่ได้มาเตรียมในรูปสารแขวนลอยของเซลล์ที่มีความหนาแน่นเซลล์เป็น  $1 \times 10^6$  เซลล์ ปริมาตร 1 มล. แล้วจึงไปวิเคราะห์สัดส่วนของเซลล์ที่ติดสีย้อมต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมดด้วยเครื่องฟลูออไซโตมิเตอร์



### 3.2.4 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่างๆ

#### 3.2.4.1. การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์กระดูก (Osteocyte)

นำเซลล์ที่ passage 5 มาใช้ โดยทำการเลี้ยงเซลล์ใน 4-well plate ที่เคลือบด้วย 0.1% gelatin ประมาณ  $1.5 \times 10^4$  เซลล์/ตารางเซนติเมตร ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบไปด้วย  $\alpha$ -MEM ที่เติมด้วย 10% FBS, 10 mM L-glutamine, 100 units/ml penicilin, 100  $\mu$ /ml streptomycin เลี้ยงและเปลี่ยนน้ำยาทุกๆ 3 วัน จนกระทั่งเซลล์มีความหนาแน่นประมาณ 80% นำมาเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์กระดูก โดยขั้นตอนการเหนี่ยวนำจะแยกเป็นกลุ่ม control โดยใช้น้ำยาที่ไม่มีซีรัมเพื่อใช้สำหรับเติมสารที่ใช้เหนี่ยวนำ ในที่นี้เรียกว่า medium for differentiation ประกอบด้วย  $\alpha$ -MEM ที่เติมด้วย 10 mM L-glutamine, 100 units/ml penicilin, 100  $\mu$ /ml streptomycin และกลุ่มที่เหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์กระดูก จะเติม 100 nM dexamethasone, 50  $\mu$ M ascorbate-2-phosphate, 10  $\mu$ M  $\beta$ -glycerophosphate ในน้ำยาเพื่อให้เกิดการ differentiation ด้วยทำการเหนี่ยวนำเซลล์เป็นระยะเวลา 21 วัน และเปลี่ยนน้ำยาเหนี่ยวนำทุกๆ 3 วัน โดยน้ำยาที่ใช้เหนี่ยวนำจะเตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง สังเกตและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่จะมีลักษณะจำเพาะของเซลล์กระดูกโดยใช้กล้อง inverted microscope จากนั้นตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์กระดูก โดยย้อมสี Alizarin red เพื่อตรวจสอบการสะสมของแคลเซียมภายในเซลล์ (calcification) ภายใต้กล้อง inverted microscope

#### 3.2.4.2. การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์ไขมัน (Adipocyte)

นำเซลล์ที่ passage ที่ 5 มาใช้ และทำการเลี้ยงเซลล์  $1.5 \times 10^4$  เซลล์/ตารางเซนติเมตร ใน 4-well plate ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบไปด้วย  $\alpha$ -MEM ที่เติมด้วย 10% FBS, 10 mM L-glutamine, 100 units/ml penicilin, 100  $\mu$ /ml streptomycin จนได้ความหนาแน่น 80% ซึ่งเลี้ยงโดยใช้น้ำยาที่ทำให้เกิด differentiation เป็นเซลล์ไขมัน ซึ่งเติมด้วย 10  $\mu$ M insulin, 60  $\mu$ M indomethacin, 1  $\mu$ M dexamethasone และ 0.5 mM isobutyl methylxanthine (IBMX) ภายหลังจากเหนี่ยวนำเซลล์ไปแล้ว 7 วัน ทำการเตรียมน้ำยาเหนี่ยวนำใหม่ที่ไม่มี 0.5 mM IBMX แล้วเหนี่ยวนำเซลล์จนครบ 21 วัน โดยเปลี่ยนน้ำยาเหนี่ยวนำเซลล์ทุกๆ 3 วัน และน้ำยาที่ใช้เหนี่ยวนำจะเตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง สังเกตและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่จะมีลักษณะจำเพาะของเซลล์ไขมัน โดยใช้กล้อง inverted microscope จากนั้นตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์ไขมัน โดยย้อมสี Oil red O เพื่อตรวจสอบการสร้างไขมันภายในเซลล์ (lipid droplet) ภายใต้กล้อง inverted microscope

### 3.2.4.3. การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน (Chondrocyte)

นำเซลล์ที่ passage 5 มาใช้ และทำการเลี้ยงเซลล์  $1.5 \times 10^4$  เซลล์/ตารางเซนติเมตร ใน 4-well plate ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบไปด้วย  $\alpha$ -MEM ที่เติมด้วย 10% FBS, 10 mM L-glutamine, 100 units/ml penicilin, 100  $\mu$ l/ml streptomycin จนได้ความหนาแน่น 80% จากนั้นทำการเหนี่ยวนำเซลล์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน ซึ่งเลี้ยงโดยใช้น้ำยาที่ทำให้เกิด differentiation ซึ่งเติมด้วย 10  $\mu$ g/ml insulin-transferrin-selenium-ethanolamine (ITS-X), 50  $\mu$ g/ml ascorbate 2-phosphate, 40  $\mu$ g/ml L-proline, 100  $\mu$ g/ml sodium pyruvate, 100 nM dexamethasone, 10 ng/ml, transforming growth factor beta 3 (TGF- $\beta$ 3) และ 2% FBS ทำการเหนี่ยวนำเซลล์เป็นระยะเวลา 21 วัน และเปลี่ยนน้ำยาเหนี่ยวนำเซลล์ทุกๆ 3 วัน โดยน้ำยาที่ใช้เหนี่ยวนำจะเตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง สังเกตและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่จะมีลักษณะจำเพาะของเซลล์กระดูกอ่อน โดยใช้กล้อง inverted microscope จากนั้นตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์กระดูกอ่อน โดยย้อมสี Alcian blue เพื่อตรวจสอบการสร้าง glycosaminoglycan extracellular matrix ของเซลล์ที่ถูกเหนี่ยวนำภายใต้กล้อง inverted microscope

## บทที่ 4

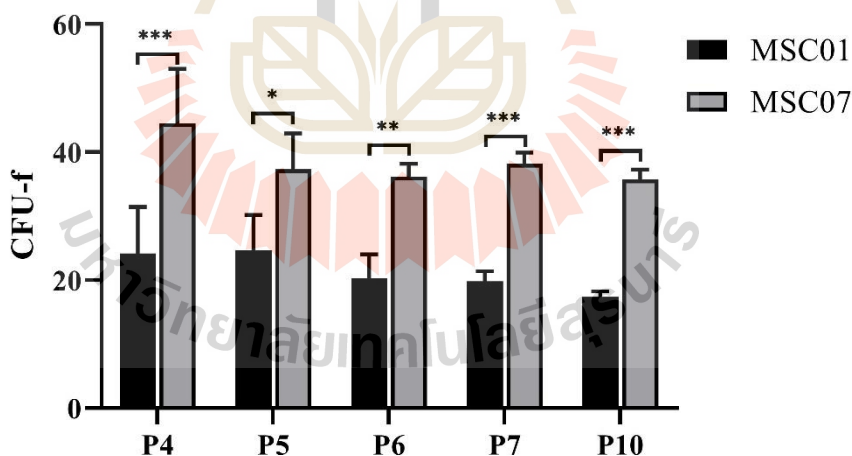
### ผลการดำเนินงานวิจัย

#### 4.1 ผลการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्ली

สายรณมนุษย์จำนวน 2 ตัวอย่าง ถูกนำมาแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ได้สำเร็จ ได้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จำนวน 2 สายพันธุ์ กำหนดชื่อเป็น MSC01 และ MSC07 นำเซลล์ที่ได้มาวิเคราะห์คุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ได้แก่ โปรตีนที่ผิวเซลล์ การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่น (เซลล์กระดูก เซลล์ไขมัน และ เซลล์กระดูกอ่อน) ได้ผลดังนี้

##### 4.1.1 ผลการตรวจสอบการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ (Colony forming unit (CFU))

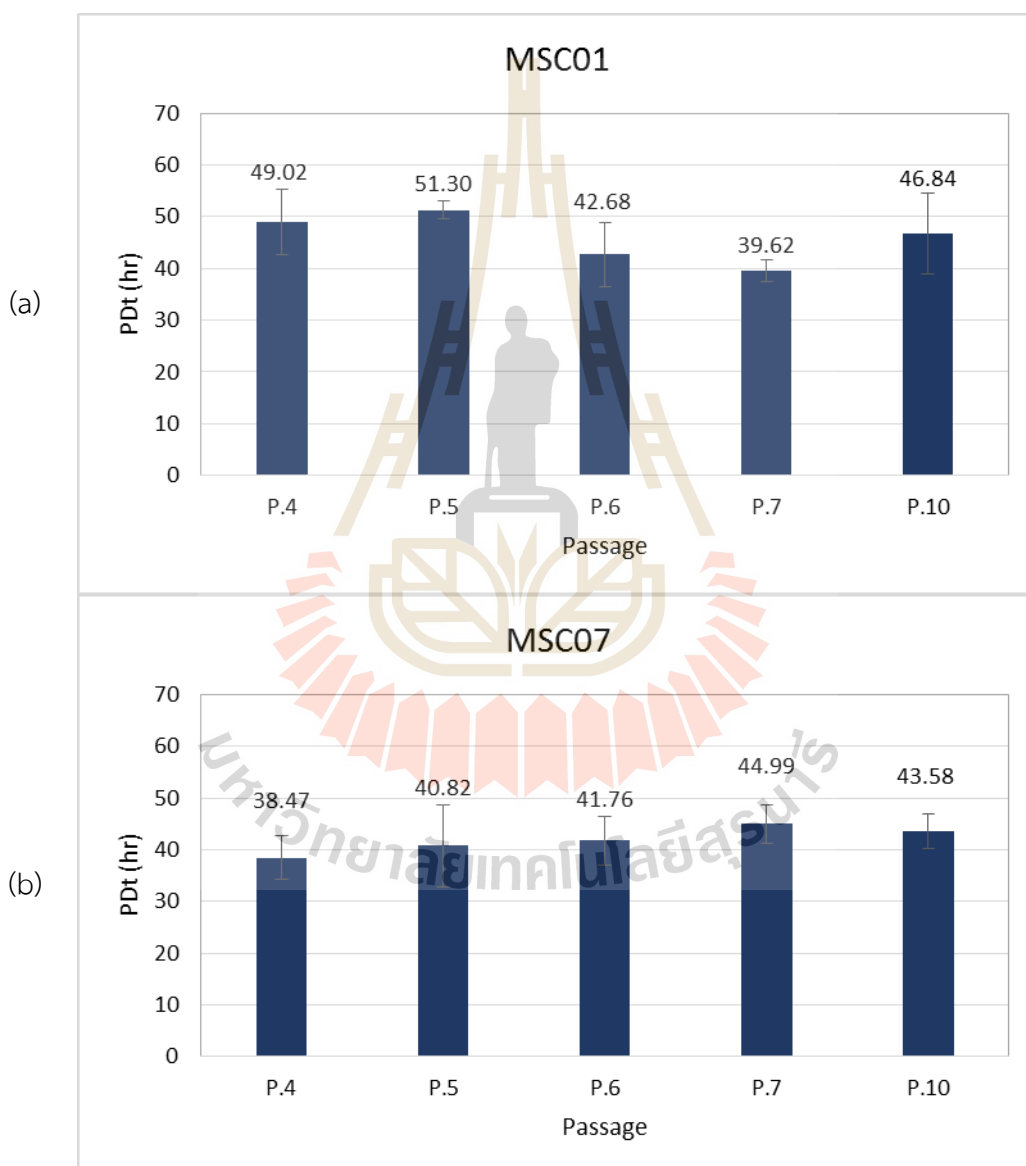
การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ ของเซลล์สายพันธุ์ MSC01 และ MSC07 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 ดังแสดงในรูปที่ 1 การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ของเซลล์สายพันธุ์ MSC01 passage 4, 5, 6, 7 และ 10 อยู่ในช่วง  $18.17 \pm 2.08$  ถึง  $24.67 \pm 5.48$  การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ของเซลล์สายพันธุ์ MSC07 ซึ่งอยู่ในช่วง  $35.17 \pm 2.08$  ถึง  $38.17 \pm 1.76$  โดยที่การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ของเซลล์สายพันธุ์ MSC01 ต่ำกว่า การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ของเซลล์สายพันธุ์ MSC07 ในทุก passage อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 1 การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ของเซลล์สายพันธุ์ MSC01 และ MSC07 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 (\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , ANOVA)

#### 4.1.2 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า

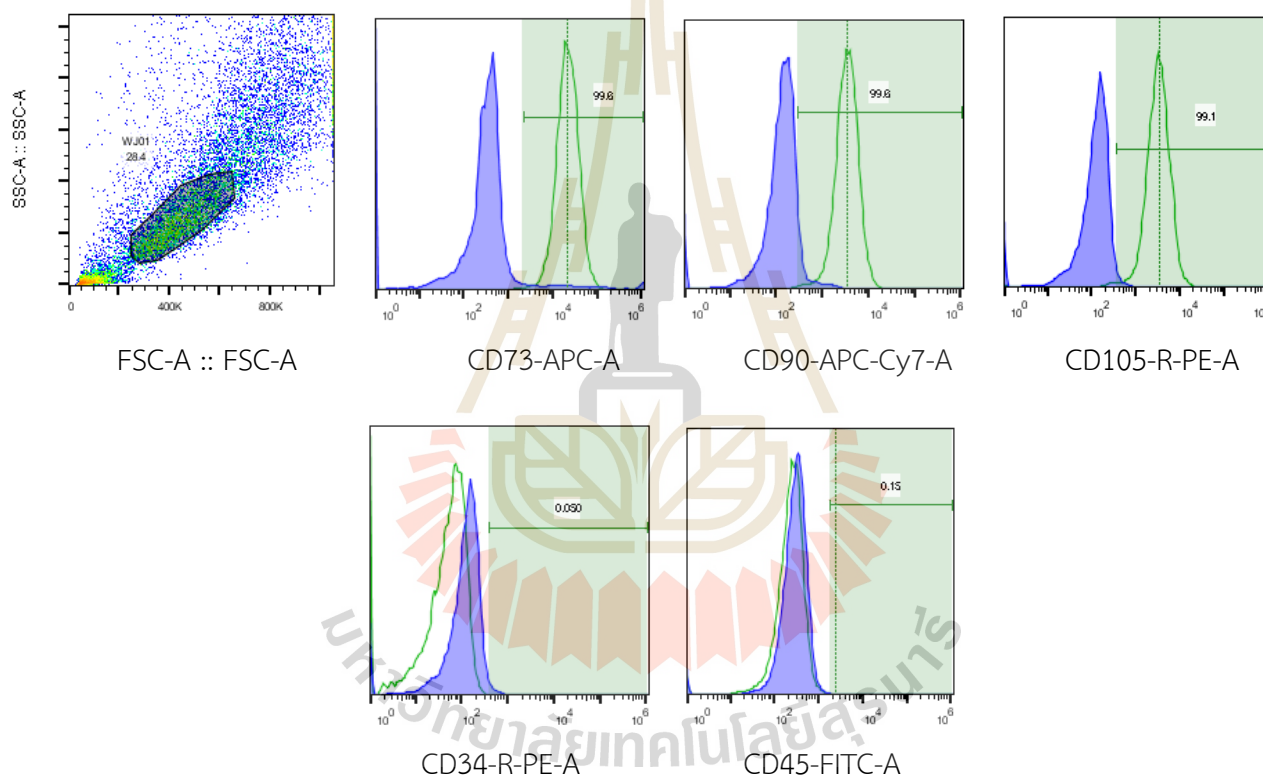
ผลการวิเคราะห์ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า แสดงดังรูปที่ 2 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์สายพันธุ์ MSC01 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 มีค่าเป็น  $49.02 \pm 6.34$ ,  $51.30 \pm 1.72$ ,  $42.68 \pm 6.20$ ,  $39.62 \pm 2.09$  และ  $46.84 \pm 7.79$  ตามลำดับ ในขณะที่เซลล์สายพันธุ์ MSC07 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 มีค่าเป็น  $38.47 \pm 4.16$ ,  $40.82 \pm 7.98$ ,  $41.76 \pm 4.63$ ,  $44.99 \pm 3.71$  และ  $43.58 \pm 3.33$  ตามลำดับ ซึ่งเซลล์ทั้งสองสายพันธุ์มีอัตราเร็วในการเพิ่มจำนวนเซลล์อยู่ในช่วงที่ปกติในทุก passage ที่ทำการวิเคราะห์



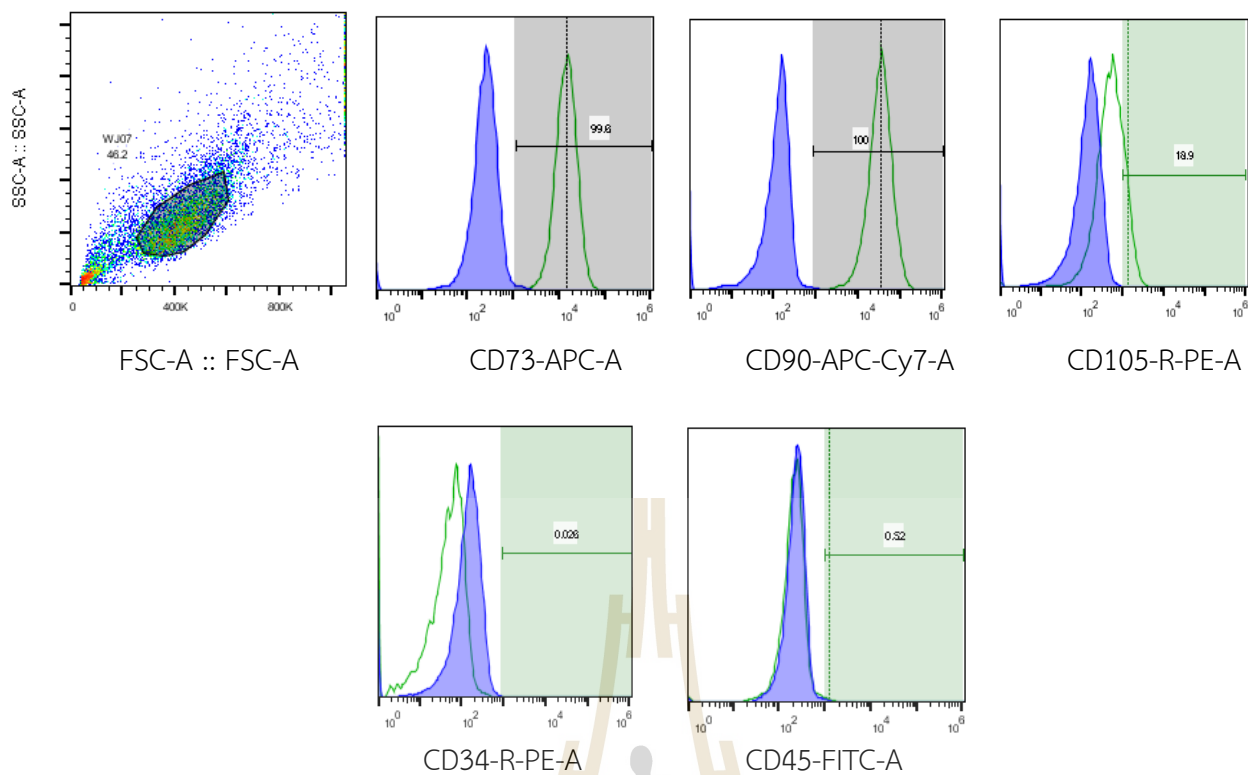
รูปที่ 2 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์ (a) MSC01 และ (b) MSC07

#### 4.1.3 การตรวจสอบโปรตีนที่ผิวเซลล์ด้วยวิธีโฟลไซโตเมทรี

โปรตีนบนผิวเซลล์ ของเซลล์สายพันธุ์ MSC01 และ MSC07 เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโฟลไซโตเมทรี ได้ผลดังรูปที่ 3 และ 4 ตามลำดับ และแสดงผลร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์แต่ละชนิดได้ ดังตารางที่ 1 โดยที่ CD73 CD90 และ CD105 เป็นโปรตีนที่ต้องปรากฏบนผิวเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ส่วน CD34 และ CD45 เป็นโปรตีนที่ต้องไม่ปรากฏบนผิวเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ จากผลการวิเคราะห์เซลล์สายพันธุ์ MSC01 พบว่ามีเซลล์ที่ปรากฏ CD73 CD90 และ CD105 มากกว่าร้อยละ 95 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD34 และ CD45 น้อยกว่าร้อยละ 2 ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ของ International Society for Cell & Gene Therapy ในขณะที่ เซลล์สายพันธุ์ MSC07 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD73 และ CD90 มากกว่าร้อยละ 95 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD34 และ CD45 น้อยกว่าร้อยละ 2 แต่มีเซลล์ที่ปรากฏ C105 เพียงร้อยละ 32.430 ซึ่งต่ำกว่ามาตรฐาน



รูปที่ 3 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์ด้วยวิธีโฟลไซโตเมทรีของเซลล์สายพันธุ์ MSC01



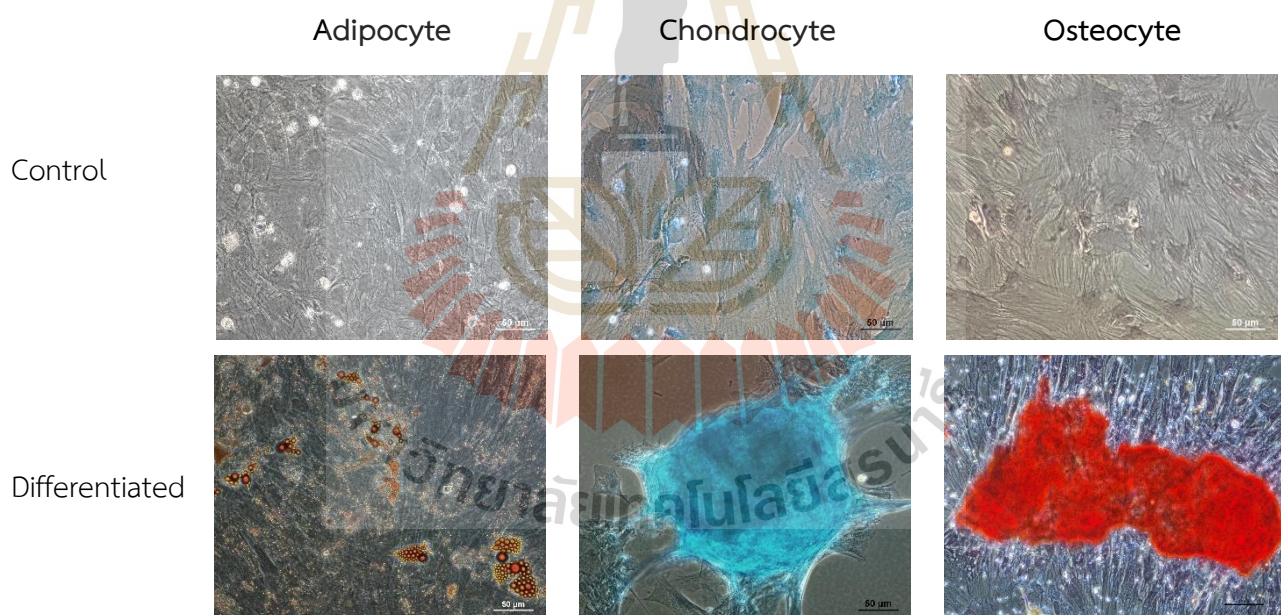
รูปที่ 4 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธีโฟลไซโตเมทรีของเซลล์สายพันธุ์ MSC07

ตารางที่ 1 ร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์จากการวิเคราะห์โดยวิธีโฟลไซโตเมทรี

เซลล์สายพันธุ์	ร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์				
	CD73	CD90	CD105	CD34	CD45
MSC01	99.641	97.820	97.599	0.010	0.523
MSC07	99.310	99.990	32.430	0.030	0.450

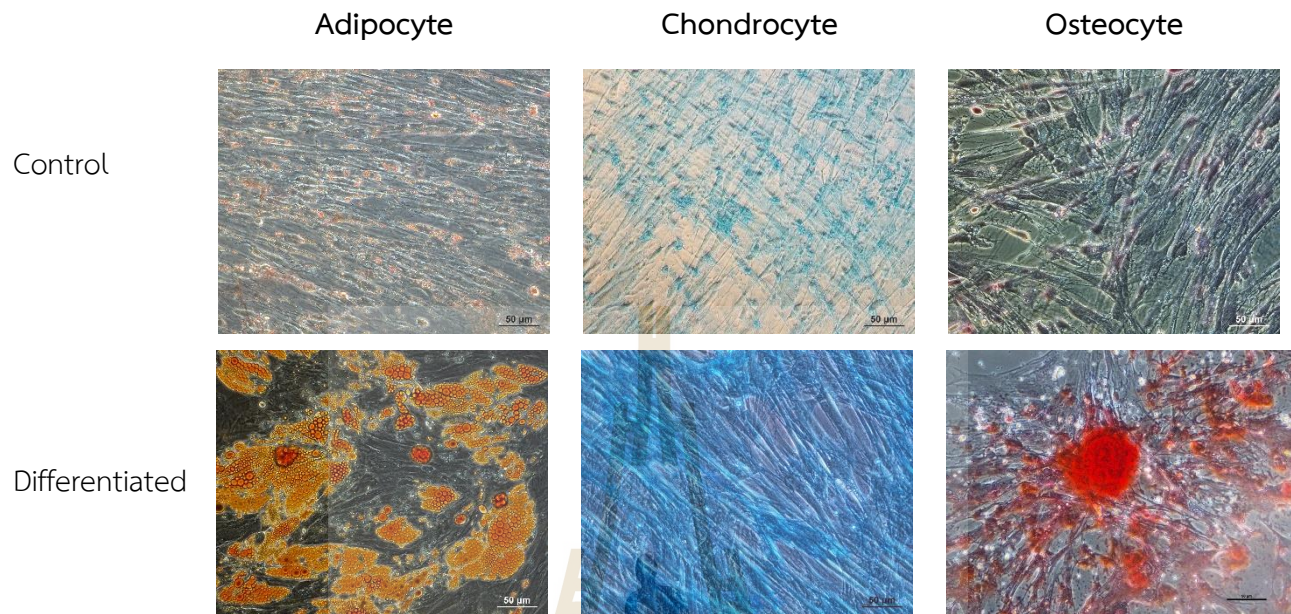
#### 4.2 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ

ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก โดยการใช้สารเหนี่ยวนำในอาหารเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน สำหรับเซลล์สายพันธุ์ MSC01 และ MSC07 แสดงดังรูปที่ 5 และ 6 ตามลำดับ ทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC01 และ MSC07 สามารถเปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ได้ โดยที่ในการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์ไขมัน เซลล์สายพันธุ์ MSC07 สามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไขมันได้ดีกว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC01 เนื่องจากพบเซลล์ที่ปรากฏ lipid droplet ติดสีย้อม Oil red O ปริมาณมากกว่า ส่วนการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน พบว่าทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC01 และ MSC07 สามารถเปลี่ยนไปเซลล์กระดูกอ่อนได้ดีเนื่องจากพบบริเวณที่ติดสีย้อม Alcian blue จำนวนมาก ในขณะที่การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์กระดูก พบว่าทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC01 และ MSC07 สามารถเปลี่ยนไปเซลล์กระดูกได้ดีเนื่องจากพบบริเวณที่ติดสีย้อม Alizarin red จำนวนมากเช่นกัน



รูปที่ 5 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC01





**รูปที่ 6** ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC07

#### หมายเหตุ

เนื่องจากโครงการวิจัยนี้ได้รับงบประมาณให้ดำเนินการวิจัยปีแรกเพียงปีเดียว แต่ไม่ได้รับงบประมาณให้ดำเนินการวิจัยในปีที่ 2 และ 3 จึงได้ผลการทดลองเพียงเท่านั้น

## บทที่ 5

### อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ MSC01 และ MSC07 ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीของสายรก เมื่อนำมาตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ การแสดงออกของของโปรตีนที่ผิวเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่น (เซลล์กระดูก เซลล์ไขมัน และเซลล์กระดูกอ่อน) พบว่าความสามารถในการสร้างโคโลนีของกลุ่มเซลล์สายพันธุ์ MSC01 ต่ำกว่าของกลุ่มเซลล์สายพันธุ์ MSC07 แสดงว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC01 มีความสามารถในการเพิ่มจำนวนด้วยตัวเองต่ำกว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC07 ความสามารถในการสร้างโคโลนีของกลุ่มเซลล์ของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากสายรกมนุษย์ทั้งสองสายพันธุ์ที่แยกได้ใกล้เคียงกันกับผลการศึกษาของ Balgi-Agarwal และคณะ (2018) และสูงกว่าเมื่อเทียบกับเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากไขกระดูกมนุษย์ (Akiyama และคณะ, 2012)

ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 ของเซลล์สายพันธุ์ MSC01 มีค่าเป็น  $39.62 \pm 2.09$  ถึง  $51.30 \pm 1.72$  ชั่วโมง ในขณะที่เซลล์สายพันธุ์ MSC07 มีค่าเป็น  $38.47 \pm 4.16$  ถึง  $44.99 \pm 3.71$  ชั่วโมง เซลล์ทั้งสองสายพันธุ์มีอัตราเร็วในการเพิ่มจำนวนเซลล์อยู่ในช่วงที่ปกติในทุก passage ซึ่งสอดคล้องกับระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่าของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจल्लीจากสายรกมนุษย์ในรายงานการวิจัยอื่นที่ได้รายงานเอาไว้ (Li และคณะ, 2014; Yoon และคณะ, 2013)

จากการตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์ของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์สายพันธุ์ MSC01 และ MSC07 ที่ passage 5 ซึ่งถูกวิเคราะห์โดยวิธี flow cytometry ซึ่งเป็นการย้อมเซลล์แขวนลอยแล้วนับเซลล์ที่ติดสีย้อมแอนติบอดี ซึ่งวิธีการนี้เป็นวิธีที่ดีเนื่องจากจะทำให้ได้ข้อมูลสัดส่วนจำนวนเซลล์ที่ติดสีย้อมต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมดด้วย พบว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC01 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD73 CD90 และ CD105 มากกว่าร้อยละ 95 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD34 และ CD45 น้อยกว่าร้อยละ 2 ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ของ International Society for Cell & Gene Therapy (Dominici และคณะ, 2006) และสอดคล้องกับการแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากสายรกในการวิจัยก่อนหน้านี้ (L Ramos และคณะ, 2016; Maleki และคณะ, 2014) ซึ่งพบการแสดงออกของโปรตีน CD73 CD90 และ CD105 แต่ไม่ปรากฏ CD34 และ CD45 ในขณะที่เซลล์สายพันธุ์ MSC07 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD73 และ CD90 มากกว่าร้อยละ 95 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD34 และ CD45 น้อยกว่าร้อยละ 2 แต่มีเซลล์ที่ปรากฏ CD105 ต่ำกว่ามาตรฐาน

การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก โดยการให้สารเหนี่ยวนำในอาหารเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน ทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC01 และ MSC07 สามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และเซลล์กระดูกได้ จากผลการย้อมด้วย Oil red O ที่บ่งชี้ความเป็นเซลล์ไขมัน ผลการย้อมด้วย Alcian blue ที่บ่งชี้ความเป็นเซลล์กระดูกอ่อน และผลการย้อมด้วย Alizarin Red ที่บ่งชี้ความเป็นเซลล์กระดูก พบว่าเซลล์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถย้อมติดสีย้อมทั้ง 3 ชนิดได้ดี แสดงว่าเซลล์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ได้ดี

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ทั้งสายพันธุ์ MSC01 และ MSC07 มีระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า อยู่ในช่วงที่ปกติในทุก passage ที่ทำการวิเคราะห์ และสามารถเหนี่ยวนำให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ได้ดี ถึงแม้ว่าเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์สายพันธุ์ MSC01 มีความสามารถในการสร้างโคโลนีต่ำกว่าสายพันธุ์ MSC07 แต่ผลการตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์ พบว่าสายพันธุ์ MSC01 ผ่านเกณฑ์มาตรฐานความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ในขณะที่เซลล์สายพันธุ์ MSC07 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD105 ต่ำกว่ามาตรฐาน ดังนั้น MSC01 จึงถูกเลือกเพื่อนำมาใช้ในการศึกษาการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากรกมนุษย์ให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อนต่อไปในอนาคต

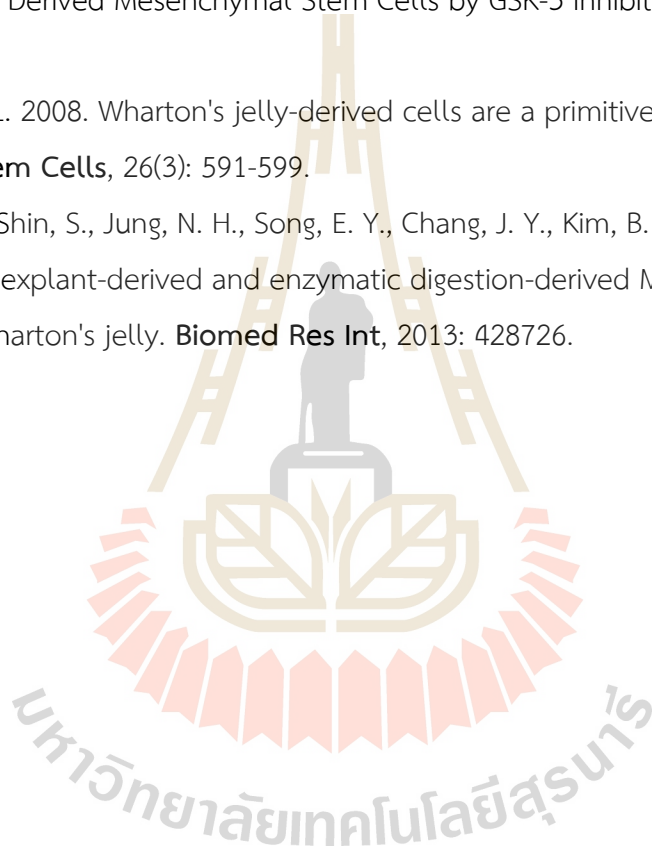


### บรรณานุกรม

- Abbud Lozoya, K. A.Kourl Flores, J. B. 2000. A novel rat osteoarthritis model to assess apoptosis and matrix degradation. **Pathology - Research and Practice**, 196(11): 729-745.
- Akiyama, K., You, Y. O., Yamaza, T., Chen, C., Tang, L., Jin, Y., Chen, X. D., Gronthos, S. Shi, S. 2012. Characterization of bone marrow derived mesenchymal stem cells in suspension. **Stem Cell Res Ther**, 3(5): 40.
- Balgi-Agarwal, S., Winter, C., Corral, A., Mustafa, S. B., Hornsby, P. Moreira, A. 2018. Comparison of Preterm and Term Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cell Properties in Different Oxygen Tensions. **Cells, tissues, organs**, 205(3): 137-150.
- Bendele, A. M. Hulman, J. F. 1988. Spontaneous cartilage degeneration in guinea pigs. **Arthritis & Rheumatism**, 31(4): 561-565.
- Cucchiari, M., de Girolamo, L., Filardo, G., Oliveira, J., Orth, P., Pape, D. Reboul, P. 2016. Basic science of osteoarthritis. **Journal of Experimental Orthopaedics**, 3.
- Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F. C., Krause, D. S., Deans, R. J., Keating, A., Prockop, D. J. 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.
- Goldberg, A., Mitchell, K., Soans, J., Kim, L. Zaidi, R. 2017. The use of mesenchymal stem cells for cartilage repair and regeneration: a systematic review. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, 12(1): 39.
- Gregory, M. H., Capito, N., Kuroki, K., Stoker, A. M., Cook, J. L. Sherman, S. L. 2012. A review of translational animal models for knee osteoarthritis. **Arthritis**, 2012: 764621.
- Hayami, T., Pickarski, M., Wesolowski, G. A., McLane, J., Bone, A., Destefano, J., Rodan, G. A. Duong, L. T. 2004. The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis: reduction of cartilage degeneration and prevention of osteophyte formation by alendronate in the rat anterior cruciate ligament transection model. **Arthritis Rheum**, 50(4): 1193-1206.
- Hayami, T., Pickarski, M., Zhuo, Y., Wesolowski, G. A., Rodan, G. A. Duong, L. T. 2006. Characterization of articular cartilage and subchondral bone changes in the rat anterior

- cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis. **Bone**, 38(2): 234-243.
- Huebner, J. L., Hanes, M. A., Beekman, B., TeKoppele, J. M., Kraus, V. B. 2002. A comparative analysis of bone and cartilage metabolism in two strains of guinea-pig with varying degrees of naturally occurring osteoarthritis. **Osteoarthritis Cartilage**, 10(10): 758-767.
- Ikeda, T., Kubo, T., Arai, Y., Nakanishi, T., Kobayashi, K., Takahashi, K., Imanishi, J., Takigawa, M., Hirasawa, Y. 1998. Adenovirus mediated gene delivery to the joints of guinea pigs. **J Rheumatol**, 25(9): 1666-1673.
- Jimenez, P. A., Glasson, S. S., Trubetsky, O. V., Haimes, H. B. 1997. Spontaneous osteoarthritis in Dunkin Hartley guinea pigs: histologic, radiologic, and biochemical changes. **Lab Anim Sci**, 47(6): 598-601.
- Kraus, V. B., Huebner, J. L., DeGroot, J., Bendele, A. 2010. The OARSI histopathology initiative - recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the guinea pig. **Osteoarthritis Cartilage**, 18 Suppl 3(Suppl 3): S35-52.
- L Ramos, T., Sánchez-Abarca, L. I., Muntión, S., Preciado, S., Puig, N., López-Ruano, G., Hernández-Hernández, Á., Redondo, A., Ortega, R., Rodríguez, C., Sánchez-Guijo, F., 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 : CCS**, 14: 2-2.
- Li, X., Bai, J., Ji, X., Li, R., Xuan, Y., Wang, Y. 2014. Comprehensive characterization of four different populations of human mesenchymal stem cells as regards their immune properties, proliferation and differentiation. **International journal of molecular medicine**, 34(3): 695-704.
- Maleki, M., Ghanbarvand, F., Reza Behvarz, M., Ejtemaei, M., Ghadirkhomi, E. 2014. Comparison of mesenchymal stem cell markers in multiple human adult stem cells. **Int J Stem Cells**, 7(2): 118-126.
- Santangelo, K. S., Bertone, A. L. 2011. Effective reduction of the interleukin-1 $\beta$  transcript in osteoarthritis-prone guinea pig chondrocytes via short hairpin RNA mediated RNA interference influences gene expression of mediators implicated in disease pathogenesis. **Osteoarthritis and Cartilage**, 19(12): 1449-1457.
- Sato, M., Uchida, K., Nakajima, H., Miyazaki, T., Guerrero, A. R., Watanabe, S., Roberts, S., Baba, H. 2012. Direct transplantation of mesenchymal stem cells into the knee joints of Hartley

- strain guinea pigs with spontaneous osteoarthritis. **Arthritis Research & Therapy**, 14(1): R31.
- Song, L., Baksh, D.Tuan, R. S. 2004. Mesenchymal stem cell-based cartilage tissue engineering: cells, scaffold and biology. **Cytotherapy**, 6(6): 596-601.
- Sophia Fox, A. J., Bedi, A.Rodeo, S. A. 2009. The basic science of articular cartilage: structure, composition, and function. **Sports Health**, 1(6): 461-468.
- 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): e0168059.
- Troyer, D. L.Weiss, M. L. 2008. Wharton's jelly-derived cells are a primitive stromal cell population. **Stem Cells**, 26(3): 591-599.
- Yoon, J. H., Roh, E. Y., Shin, S., Jung, N. H., Song, E. Y., Chang, J. Y., Kim, B. J.Jeon, H. W. 2013. Comparison of explant-derived and enzymatic digestion-derived MSCs and the growth factors from Wharton's jelly. **Biomed Res Int**, 2013: 428726.



## 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.  
ด้วยทุน British Council สถาบัน Cambridge University, U.K. 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 ไช้ และตัวอ่อน โค-กระบือ

#### 4.5. เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน และเซลล์ต้นกำเนิดร่างกาย ในลิงและมนุษย์

### 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 และทำการแช่แข็งตัวอ่อนโดยวิธีวิตรีฟิเคชั่น จากนั้นนำตัวอ่อนแช่แข็งเข้ามาย้ายฝากให้โคตัวรับในประเทศไทย มีลูกโคเกิดมามากกว่า 200 ตัว

6.1.2. นายธรรมบุญ ทองประไพ องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย ในการวิจัยการโคลนนิ่งพ่อโคนมพันธุ์กรรมดีเยี่ยมชื่อแพคเตอร์ได้โคเกิดมา 4 ตัว มีสุขภาพแข็งแรง และนำไปผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง

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

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

#### 6.2 ภาคเอกชน บริษัท:

6.2.1. นายสุริยา กิจสำเร็จ เอสเคพท์ยาแรนซ์ในการวิจัยโคลนนิ่งโคบราห์มัน ได้ลูกโคโคลนนิ่งเกิดมา 7 ตัวจากเซลล์ต้นแบบโคบราห์มันเทาเพศผู้ชื่อตุ้มตาม มีสุขภาพแข็งแรงดี และมีลูกโคโคลนนิ่งเกิดมา 4 ตัว จากเซลล์ต้นแบบโคบราห์มันแดงเพศเมียชื่อเบนซ์ มีสุขภาพแข็งแรงดี



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

6.2.3. ฟาร์มโคนมปักธงชัย บจก. ซีพีเอฟ ในการวิจัยการผลิตตัวอ่อนโคนมพันธุ์ดีเยี่ยมโดยการนำไข่ที่เจาะเก็บจากโคนมมีชีวิตด้วยอัลตราซาวด์ แล้วนำไข่ไปปฏิสนธิกับน้ำเชื้อโคนมพันธุ์ดีเยี่ยมในหลอดแก้ว แล้วนำตัวอ่อนไปย้ายฝากให้โคตัวรับ ได้ลูกโคเกิดมากกว่า 40 ตัว

### 6.3 มหาวิทยาลัย สถาบันอื่น ๆ:

6.3.1. ดร.ทัศนีย์ เพิ่มไทย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในการวิจัยการเพาะแยกเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อโพรงฟันมนุษย์ภายใต้สภาวะปลอดผลิตภัณฑ์จากสัตว์เพื่อประโยชน์ในการรักษา

6.3.2. รศ.นพ.กำธร พุกขานานนท์ 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 กันยายน 2529 นับเป็นรายแรกของประเทศไทย (ขณะทำงาน ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ) ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของการนำการย้ายฝากตัวอ่อนไปใช้ในการเพิ่มจำนวนและปรับปรุงพันธุ์โคนมและโคเนื้อพันธุ์กรรมดีเยี่ยมจนถึงปัจจุบัน

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

7.3. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งโค โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งเกิดมาเมื่อวันที่ 6 มีนาคม 2543 นับเป็นรายแรกของอาเซียน และรายที่ 6 ของโลก (ขณะทำงาน ณ คณะสัตว

แพทยศาสตร์ จุฬาฯ) ท าให้ประเทศไทยได้รับการยอมรับในระดับนานาชาติทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพในสัตว์ระดับสูง มีการอ้างอิงผลงานวิจัยนี้จากนักวิทยาศาสตร์ทั่วโลก ได้รับการโทรศัพท์สัมภาษณ์จากสำนักข่าว CNN BBC AFP และมีการเผยแพร่ข่าวความสำเร็จในสถานีโทรทัศน์ทุกช่อง หนังสือพิมพ์ทุกฉบับ

7.4. ประสบความสำเร็จการโคลนนิ่งตัวอ่อนกระป๋องปลักโดยใช้เซลล์ร่างกายลูกอ่อนโคและเซลล์แกรนูโลซาเป็นเซลล์ต้นแบบ นับเป็นรายแรกของโลกที่ทำและตีพิมพ์ผลงานใน Buffalo Journal 1999, 15: 371-384. (ขณะทำงาน ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ) ทำให้ประเทศไทยได้รับการยอมรับในระดับนานาชาติทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพในสัตว์ระดับสูง โดยเฉพาะในกระป๋อง ทำให้ได้รับเชิญไปบรรยายในหัวข้อการโคลนนิ่งกระป๋อง ในการประชุม The 8<sup>th</sup> 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 “ตุ้มตาม” โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งจากเซลล์ต้นแบบตัวเดียวกัน 7 ตัวเกิดมา มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรงดีมาก ลูกโคทุกตัวผ่านการตรวจสอบดีเอ็นเอแล้วพบว่าดีเอ็นเอเหมือน “ตุ้มตาม” เจ้าของเซลล์ต้นแบบทุกประการ

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

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

7.8. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งโคนมขาวดำเพศผู้ชื่อ “แพคเตอร์” 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 “ขวามงคล” และได้ลูกโคขาวลำพูนโคลนนิ่งตัวที่ 2 เกิดมาเมื่อวันที่ 1 ก.พ. 2555 ได้รับการตั้งชื่อว่า “เศวต” และได้ น้อมเกล้าถวาย “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 ขณะนั้นยังไม่มีหน่วยงานใดผลิตโควากิวลูกผสมที่ให้เนื้อเกรดพรีเมียมที่มีเนื้อนุ่มไขมันแทรกสูงเพราะคิดว่าเลี้ยงยากมีความเสี่ยงที่โคปรับตัวไม่ได้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (มทส.) โดย รศ.ดร.รังสรรค์ พาลพ่ายผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีชีวภาพในการปรับปรุงพันธุ์โค ที่สำเร็จการศึกษาจากประเทศญี่ปุ่น และผ่านการดูงานการเลี้ยงโควากิวในหลายประเทศ จึงได้ริเริ่มนำน้ำเชื้อโควากิวพันธุ์แท้ให้เกษตรกรนำไปใช้ผสมเทียมให้กับโคเนื้อเพื่อรับซื้อลูกโครุ่นแรก (F1) กลับมาขุนและปรับปรุงพันธุ์ต่อไปโดยเริ่มต้นตั้งแต่ปี 2551 ได้เชิญชวนเกษตรกรเข้าหุ้่นซื้อพ่อโควากิวพันธุ์แท้ จากประเทศออสเตรเลีย อายุ 19 เดือน 1 ตัว ราคา 700,000 บาท นำเข้ามาในเดือนกันยายน 2551 ได้รับการตั้งชื่อว่า “โกโบริ” โดยได้นำไปเลี้ยงในฟาร์มวิจัยของ “ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีตัวอ่อนและเซลล์ต้นกำเนิด” ภายใน มทส. ซึ่งเป็นคอกปกติเหมือนการเลี้ยงโคเนื้อทั่วไป ไม่ต้องติดแอร์ไม่ต้องกางมุ้ง เพื่อผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งให้ผู้ถือหุ้่นร่อยกว่าคนนำไปผสมเทียมให้กับแม่โค ตั้งแต่ปี 2551 มทส. ได้เริ่มจัดอบรมวิธีการปรับปรุงพันธุ์โคเนื้อโดยใช้น้ำเชื้อโควากิวผสมเทียมและวิธีการขุนให้ได้เนื้อเกรดพรีเมียมมีไขมันแทรกสูง ให้กับเกษตรกรจังหวัดนครราชสีมา สุรินทร์ บุรีรัมย์ ระยอง นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี ระหว่างนี้ที่ทีมงานสัตวแพทย์ได้เก็บข้อมูลสุขภาพของโกโบริพบว่าไม่มีปัญหาทุกด้าน ทำให้มีความมั่นใจว่าโควากิวพันธุ์แท้เลี้ยงได้ดีไม่มีปัญหา ทำให้เกษตรกรรวมตัวกันซื้อตัวอ่อนโควากิวพันธุ์แท้แช่แข็งจากประเทศออสเตรเลีย มาให้ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีตัวอ่อนและเซลล์ต้นกำเนิด ทำการย้ายฝากให้แม่โคตัวรับมีลูกโคเกิดมาเป็นเพศเมีย 2 ตัว และเพศผู้ 7 ตัว ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งโควากิวพันธุ์แท้ไว้ใช้ผสมเทียมให้กับโคลูกผสมวากิวรุ่นต่อไป

นอกจากนี้ มทส. ยังเป็นตัวกลางในการลงนามสัญญาซื้อขายโคขุนระหว่างพ่อค่าน้ำเชื้อชาวญี่ปุ่นกับกลุ่มเกษตรกรเลี้ยงโคสุรินทร์โกเบ ในระหว่างนี้ มทส. ยังจัดอบรมอย่างต่อเนื่องให้เกษตรกรจากทุกจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และจังหวัดอื่นๆ ทั่วทุกภาครวมแล้วกว่า 4,000 คน เกษตรกรที่ผ่านการอบรมได้ตั้งชื่อโคที่ผลิตได้ตามท้องถิ่นที่ผลิตเช่น ศรีเชียงใหม่วากิว นครพนมวากิว หนองสูงวากิว ระยองวากิว สกลนครวากิว บุรีรัมย์วากิว เป็นต้น มีการรวมตัวของเกษตรกรจัดตั้งสหกรณ์และวิสาหกิจชุมชนเลี้ยงโคลูกผสมวากิวกันหลายแห่งทั่วทุกภาค ทำให้เนื้อโคโคราชวากิวได้รับการยอมรับนำไปจำหน่ายในซูเปอร์มาร์เก็ตของห้าง สยามพารากอน เครือเดอะมอลล์ทุกห้าง ห้างเซ็นทรัล ภัตตาคาร โรงแรมต่างๆ ทั้งในกรุงเทพ และต่างจังหวัด ในปี 2560 รัฐบาลได้จัดให้การผลิตโคโคราชวากิวเป็นยุทธศาสตร์หลักด้านการเกษตรของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยมีจังหวัดนครราชสีมา เป็นศูนย์กลางการถ่ายทอดเทคโนโลยีให้เกษตรกร มีการลงนามบันทึกข้อตกลงระหว่าง มทส. กับ 27

วิสาหกิจชุมชนเลี้ยงโคควากิวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทำให้โคพันธุ์โคราชควากิวในระยะเริ่มต้น จนมีเกษตรกรภาคตะวันออกเฉียงเหนือให้การยอมรับจนกลายเป็น “อีสานควากิว” ซึ่งสอดคล้องกับนโยบาย “อีสาน 4.0” ของรัฐบาลปัจจุบัน และกำลังขยายต่อเนื่องไปทั่วประเทศไทยกลายเป็น “ไทยควากิว” รัฐบาลโดยนายกรัฐมนตรีได้จัดให้การผลิตโคควากิวเป็นหนึ่งในนโยบายหลักของรัฐบาลในการแถลงต่อรัฐสภาระหว่างวันที่ 25-26 กรกฎาคม 2562 ซึ่งจะทำให้สามารถลดการนำเข้าเนื้อโคเกรดพรีเมียมและส่งออกไปขายต่างประเทศได้ภายใน 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 โรงแรมสยามซิตี้ 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 โรงแรมฮิลตัน ภูเก็ต อากาศิเดียร์ จ.ภูเก็ต ในปีค.ศ. 2013 มีผู้เข้าร่วมประชุมกว่า 500 คน

8.3. เป็นประธานจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ The 1<sup>st</sup> 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 2<sup>nd</sup> 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 3<sup>rd</sup> SUT Stem Cell Workshop เรื่อง “Recent Advance of Embryonic and Somatic Stem Cells in Biomedical Science” ระหว่างวันที่ 27 มิถุนายน ถึง 3 กรกฎาคม

2552 ณ สุรสมันนาคาร และห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 ชั้น 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมีผู้เข้าอบรม 60 คน

8.6. เป็นประธานจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ The 4<sup>th</sup> SUT Stem Cell Workshop เรื่อง “Recent Advance of Embryonic and Somatic Stem Cells in Biomedical Science” ระหว่างวันที่ 24-30 กรกฎาคม 2553 ณ สุรสมันนาคาร และห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 ชั้น 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมีผู้เข้าอบรม 60 คน

8.7. เป็นประธานจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ The 5<sup>th</sup> SUT Stem Cell Workshop เรื่อง “The Current Status of Stem Cell Research: Pluripotency, Differentiation and Application” ระหว่างวันที่ 22-26 กรกฎาคม 2554 ณ สุรสมันนาคาร และห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 ชั้น 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมีผู้เข้าอบรม 60 คน

## 9. ผลงานตีพิมพ์เชิงวิชาการ:

### 9.1. การเขียนตำรา-หนังสือ

- 9.1.1. รังสรรค์ พาลพ่าย. 2530. การเร่งการตกไข่เพื่อทำอิทีในโค. มณีวรรณ กมลพัฒนะ (บรรณาธิการ), *การปฏิสนธิในหลอดแก้วและการย้ายฝากตัวอ่อน*. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, หน้า 41-77.
- 9.1.2. รังสรรค์ พาลพ่ายและ สรรเพชญ โสภณ. 2530. เทคนิคการย้ายฝากตัวอ่อนในโคโดยวิธีไม่ผ่าตัด. มณีวรรณ กมลพัฒนะ (บรรณาธิการ), *การปฏิสนธิในหลอดแก้วและการย้ายฝากตัวอ่อน* โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, หน้า 133-158.
- 9.1.3. รังสรรค์ พาลพ่าย สรรเพชญ โสภณ มณีวรรณ กมลพัฒนะ กำธร มีบำรุง กิตติยา ศรีศักดิ์วัฒนะ ประชุม อินทรโชติ ธวัชชัย สุวรรณกำจาย ประภากร วัฒนตร พฤฒิ เกิดชูชื่น และ สมสวัสดิ์ ต้นตระกูล. 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 โฮลติง, 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 Milanese, 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, Liguang 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., Suttirojpatana, T., Takayama, M., Liang, Y., Dochi, O., **Parnpai, R.\*** 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

Suttirojpatana, 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., Suttirojpatana, T., Takayama, M., Liang, Y., Dochi, O., **Parnpai, R.\*** 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.

Suttirojattana, 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.

Suttirojattana, 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.

Suttirojattana, 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., Anakul, 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 cytoplasm 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 human 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.
- 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. การจดสิทธิบัตร

10.1.1. รังสรรค์ พาลพ่าย วิศิษฐ์พร สุขสมบัติ อาวุธ อินทรชิ่ง อุดมวิทย์ มณีวรรณ คมสัน ภาษยเดช แสงเพชร งอนชัยภูมิ ป้องภักย์รี มีสมบัติ สมิง เต็มพรมราช “อุปกรณ์ควบคุมการเคลื่อนที่ก้านสูบของไมโครไซริงท์” ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 11 มิถุนายน 2547 ได้รับสิทธิบัตรเมื่อเดือน เมษายน 2550

10.1.2. รังสรรค์ พาลพ่าย วิศิษฐ์พร สุขสมบัติ อาวุธ อินทรชิ่ง อุดมวิทย์ มณีวรรณ คมสัน ภาษยเดช แสงเพชร งอนชัยภูมิ ป้องภักย์รี มีสมบัติ สมิง เต็มพรมราช ชูติ เหล่าธรรมธร จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ วิชัย ศรีสุรภักษ์ “เครื่องเชื่อมเซลล์ด้วยไฟฟ้ากระแสตรง” ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 11 มิถุนายน 2547

10.1.3. สุรัชย์ รัตนสุข รังสรรค์ พาลพ่าย มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ “ผลิตภัณฑ์โมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิเพศผู้ของโค และกระบวนการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิเพศผู้ของโคดังกล่าว” ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 27 กรกฎาคม 2555

10.1.4. สุรัชย์ 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 आयुโตะโมะ โตะระ 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 “การอนุรักษ์โคพันธุ์ขาวลำพูนโดยการทำให้โคลนนิ่ง” 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



## 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 & Mirobes)
- Gene Expression in cloned animals and stem cells

4. ประสบการณ์ทำงานวิจัย หรือการบริหารงานโครงการร่วมกับ collaborators

4.1 ภาครัฐ: ทำงานวิจัยด้านสเต็มเซลล์ร่วมกับ ศูนย์ความเป็นเลิศทางงานวิจัยสเต็มเซลล์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล คณะแพทยศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย

4.2 ภาคเอกชน บริษัท: ทำงานวิจัยด้านการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนเพื่อใช้ในการวิจัยร่วมกับบริษัท เมดิซส เต็มเซลล์

4.3 มหาวิทยาลัย สถาบันอื่น ๆ: ทำงานวิจัยด้านสเต็มเซลล์ร่วมกับ คณะแพทยศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : โครงการการผลิตกรดซัคซินิคโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในกระบวนการหมักแบบกะ

ผู้ประสานงานชุดโครงการ การวิจัยโปรตีนแห่งมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

หัวหน้าโครงการวิจัย : มีชื่อโครงการวิจัย ดังต่อไปนี้

- พัฒนาระบบการผลิตโพรตีนเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์และเวชสำอางค์

อยู่ระหว่างดำเนินการ ได้รับงบประมาณปี 2563



- โครงการพัฒนาขีดความสามารถทางเทคโนโลยีและวิจัยของภาคเอกชนในพื้นที่ (IRTC) ผลิตรีคอมบิแนนท์อินเตอร์ลิวคิน บริษัท เมดิซสเต็มเซลล์ จำกัด ส่งมอบผลิตภัณฑ์แล้ว
- ผลิตรีคอมบิแนนท์เบสิกไฟโบรบลาสโตกรทแฟกเตอร์ บริษัท เมดิซสเต็มเซลล์ จำกัด ส่งมอบผลิตภัณฑ์แล้ว
- การผลิตไซโตไคน์ การทำให้บริสุทธิ์ และการนำไปใช้ในงานวิจัยเซลล์ต้นกำเนิด ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2561
- การดัดแปลงพันธุกรรมของ *Sacchromyces cerevisiae* เพื่อให้สามารถผลิตเอทานอลจากแป้งมัน ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2561
- การผลิต *Pichia pastoris* ที่มีโอเมก้า 3 สูง ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2559
- การพัฒนาเทคนิคเพื่อตรวจเชื้อก่อโรคปนเปื้อนในเนื้อไก่สด ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2559
- การโคลนและศึกษาการทำงานของ Os1BGluc4 เบตากลูโคไซด์เอสจากข้าว 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
- การโคลนและผลิตเอ็นไซม์เอนเทอโรโคเนสสายสั้น ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2551
- การผลิตรีคอมบิแนนท์ทรานสกลูตามิเนสจากปลานิล ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2550
- การผลิตรีคอมบิแนนท์เอนไซม์ Thermostable DNA polymerase จาก *Pyrococcus furiosus* ในแบคทีเรีย *Escherichia coli* ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2550
- การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนในถังหมัก ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2549
- การแสดงออกและการผลิตเบต้ากลูโคไซด์เอส โดย *Pichia pastoris* ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2548
- การจำแนกลักษณะทางพันธุกรรม สรีระวิทยา และพฤติกรรมของไก่พื้นเมืองไทย ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2547
- การหาแผนที่ทางพันธุกรรมของไผ่ตง ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2546

- การพัฒนาวิธีการตรวจหาชนิดของโครโมโซมเพศปลาชนิด ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2543
- การผลิตรีคอมบิแนนท์เอนไซม์ Taq DNA polymerase ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2541 และเป็นผู้ร่วมโครงการวิจัยอื่นๆอีกมาก

## 5. ผลงานเด่น นวัตกรรม และผลกระทบจากผลงานนั้น ๆ ที่เกิดขึ้นในระดับชุมชน 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 เมื่อมีผลงานตีพิมพ์และไปนำเสนอในงานภายในและต่างประเทศ มีนักวิจัยให้ความสนใจเป็นจำนวนมาก ซึ่งปัจจุบันนี้นักวิจัย จาก ศูนย์ความเป็นเลิศทางงานวิจัยสเต็มเซลล์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล คณะแพทยศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ น าผลผลิตจากงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ เพื่อลดการนำเข้าจากต่างประเทศและลดค่าใช้จ่ายลงมาก

อีกทั้งบริษัท เมดิซสเต็มเซลล์ ได้เห็นความสำคัญและให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในการผลิต IL2 อย่างไรก็ดี การนำไปใช้ในอุตสาหกรรมทางการแพทย์ ยังต้องมีการวิจัยและพัฒนากระบวนการผลิตโกรทแฟคเตอร์ตัวอื่นๆ ด้วยและต้องพัฒนาห้องปฏิบัติการให้เป็นระบบ GMP ด้วย

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

งานวิจัยทางด้าน การแยกเพคตอสูจิ ก็อยู่ระหว่างการพัฒนาและ นักศึกษาอีกกลุ่มหนึ่งได้นำไปส่งประกวดในงาน R2M 2019 และได้รับรางวัลชนะเลิศ ระดับมหาวิทยาลัย และกำลังจะไปแข่งขันต่อในระดับภูมิภาค ส่วนหนึ่งของงานวิจัยยอสุจิโคแยกเพคติน อยู่ระหว่างการลงนามในสัญญาซื้อขายผลิตภัณฑ์กับบริษัท SEMEXION PtyLtd ประเทศออสเตรเลีย ทดสอบภาคสนามในประเทศเกาหลี

## 6. ผลงานตีพิมพ์เชิงวิชาการ: (ในฐานะข้อมูล Scopus 39 เรื่อง H-index 15)

งานที่เกี่ยวข้องกับการผลิต รีคอมบิแนนท์โปรตีนในการวิจัยสเต็มเซลล์

Imsoonthornruksa, S., Pruksananonda, K., Parnpai, R., Rungsiwirut, 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., Milanese, 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., Ngersoungnern, A., Ngersoungnern, 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., Rungsiwirut, 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.มารีนา 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.มารีนา เกตุทัต-คาร์นส์"

วันที่ยื่นคำขอ 27/07/55 เลขที่คำขอ 1201004012

วันที่ประกาศโฆษณา 21/07/56 เลขที่ประกาศโฆษณา 124729

## ดร. สุธเมธ อิ่มสุนทรรักษา

1. ชื่อ: ดร. สุธเมธ 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 เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนให้ได้มาตรฐาน

4.2 ภาคเอกชน บริษัท: ไม่มี

#### 4.3 มหาวิทยาลัย สถาบันอื่น ๆ:

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

4.3.2 ร่วมวิจัยกับ ดร. ชูติ 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 ในการผลิตโกรทแฟกเตอร์ของมนุษย์ เพื่อใช้การศึกษาคุณสมบัติทางชีววิทยาที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ชนิดต่างๆ ประกอบกับปัจจุบันเซลล์ต้นกำเนิด (Stem cells) ถูกใช้ในการศึกษาทางการแพทย์อย่างหลากหลาย รวมถึงการศึกษาทางชีววิทยาของโรค การคิดค้นยา การบำบัดด้วยยีน และการบำบัดด้วยการแทนที่เซลล์ อย่างไรก็ตาม กลไกรวมถึงการถนอมรักษาและการขยายออกของเซลล์ระยะ undifferentiated state ในหลอดทดลอง (*in vitro*) และการเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์ชนิดต่างๆ (differentiation) ในหลอดทดลอง และในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*)

ยังคงต้องการมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้รู้กลไกควบคุมที่ชัดเจน ก่อนที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคต่อไป สภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญของเซลล์ คือหนึ่งในตัวแปรสำคัญสำหรับงานวิจัยเซลล์ต้นกำเนิด ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดต้องการโกรทแฟคเตอร์ และไซโตไคน์เป็นตัวช่วยกระตุ้น เพื่อให้เกิดการเพิ่มจำนวน และชักนำให้เป็นเซลล์ชนิดต่างๆ โดยโกรทแฟคเตอร์ และไซโตไคน์ซึ่งมีราคาแพง นอกจากนี้โกรทแฟคเตอร์และไซโตไคน์เป็นโปรตีนหลักที่มีค่าใช้จ่ายสูงในการใช้เลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ เพื่อเป็นการเชื่อมโยงและบูรณาการงานวิจัยการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนกับงานวิจัยเซลล์ต้นกำเนิด นักวิจัยได้ประสบความสำเร็จในการผลิตรีคอมบิแนนท์โกรทแฟคเตอร์มาแล้ว (Imsoonthornruksa et al., 2011) นอกจากนี้ยังได้รับความร่วมมือการวิจัยจากห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดในหน่วยงานต่างๆ เพื่อทดสอบและนำไปใช้ในการเติมลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ ซึ่งได้ผลการทดลองเป็นที่น่าพอใจสามารถใช้ทดแทนโกรทแฟคเตอร์ที่ซื้อจากต่างประเทศได้ ซึ่งส่งผลให้สามารถลดต้นทุนในการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดได้ 30-50% และปัจจุบันยังไม่มีหน่วยงานใดของภาครัฐ และภาคเอกชนที่สามารถผลิตโกรทแฟคเตอร์เพื่อใช้ในทางด้านเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ โดยผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจะถูกนำเข้าจากต่างประเทศ 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 jelly-derived mesenchymal stem cells by using three-step protocol. **Int. J. Mol. Sci.** 20(12): 3016
- Tanthaisong, P., **Imsoonthornruksa, S.**, Ngermsoungnern, A., Ngermsoungnern, 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 cytoplasm 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.

**สพ.ญ.รังสิรัตน์ วงศ์สรณ์**

1. ชื่อ: สพ.ญ.รังสิรัตน์ วงศ์สรณ์

2. สาขาวิชา สถานที่ทำงาน: ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

หมายเลขติดต่อ 044223143, 0879657540

อีเมลล์ w\_rangsirat@sut.ac.th

3. ความเชี่ยวชาญที่โดดเด่น:

- พ.ศ.2560 – ปัจจุบัน สัตวแพทย์ประจำ ณ สถานดำเนินการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี การศึกษา การอบรมและการสัมมนาที่เข้าร่วม

- พ.ศ.2559 สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น

- พ.ศ.2560 เข้าร่วมอบรมโครงการอบรมผู้ขอรับใบอนุญาตใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์

- พ.ศ.2560 เข้าร่วมอบรมโครงการ สัตวแพทย์ประจำ ณ สถานที่ดำเนินการ เพื่อเสริมประสบการณ์ ทางด้านวิทยาศาสตร์สัตว์ทดลอง

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

- พ.ศ.2561 เข้าร่วมอบรมหลักสูตร สัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มเลี้ยงสัตว์ ประเภทโคนมและแพะนม

- พ.ศ.2561 เข้าร่วมอบรมเชิงปฏิบัติการ หลักสูตรสถิติและการวางแผนการวิจัยที่ใช้สัตว์

- พ.ศ.2562 เข้าร่วมสัมมนาเชิงปฏิบัติการ คณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทาง วิทยาศาสตร์ของสถานที่ดำเนินการ หัวข้อ การจัดทำ SOPs การดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์