รหัสโครงการ SUT3-304-62-36-11

รายงานการวิจัย

โครงการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์กระจกตาและการปลูกถ่ายเพื่อรักษากระต่ายที่เป็นโมเดลภาวะผิวกระจกตาเสื่อม

Induction of human Wharton's jelly of umbilical cord derived mesenchymal stem cells to be corneal epithelial cells and transplantation for repairing limbal stem cells deficiency in rabbit model

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-304-62-36-11

รายงานการวิจัย

โครงการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์กระจกตาและการปลูกถ่ายเพื่อรักษากระต่ายที่เป็นโมเดลภาวะผิวกระจกตาเสื่อม

Induction of human Wharton's jelly of umbilical cord derived mesenchymal stem cells to be corneal epithelial cells and transplantation for repairing limbal stem cells deficiency in rabbit model

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ผู้ร่วมวิจัย

รศ.ดร. มารินา เกตุทัต-คาร์นส์

ดร. สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา

สพญ. รังสิรัตน์ วงสรรค์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2562

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

ตุลาคม 2563

กิตติกรรมประกาศ

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

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย)

หัวหน้าโครงการวิจัย

ตุลาคม 2663

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อภาษาไทย

สายรกมนุษย์จำนวน 2 ตัวอย่าง จากผู้บริจาค ถูกนำมาแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ได้สำเร็จ ได้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จำนวน 2 สายพันธุ์ เซลล์ทั้งสองสายพันธุ์ถูกนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ ได้แก่ โปรตีนที่ผิวเซลล์ การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่น (เซลล์กระดูก เซลล์ไขมัน และ เซลล์กระดูกอ่อน) พบว่ามีเซลล์สายพันธุ์เดียวที่มีคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่เหมาะสม เซลล์ดังกล่าวจึงถูกนำมาใช้ในการเหนี่ยวนำให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตา ในกระบวนการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตา ได้มีการติดต่อขอเนื้อเยื่อกระจกตามนุษย์จากศูนย์ดวงตา สภากาชาดไทย มาคัดแยกเซลล์เยื่อบุผิวกระจกมนุษย์มาเป็นเซลล์ตัวอย่างเปรียบเทียบกับเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาที่ได้จากการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ พบว่าสารที่ใช้ในงานวิจัยสามารถเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาได้ โดยมีการเกิด CK12 ซึ่งเป็นโครงร่างภายในเซลล์ (cytoskeleton) ที่จำเพาะในเซลล์เยื่อบุกระจกตาขึ้นหลังการเหนี่ยวนำ แต่ไม่เกิด CK3 ซึ่งเป็นโครงร่างภายในเซลล์อีกชนิดที่จำเพาะของเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตา แสดงให้เห็นว่าสารที่ใช้ในการทดลองเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาได้ไม่สมบูรณ์ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยใส่สารเหนี่ยวนำบางชนิดเพื่อให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาอย่างสมบูรณ์และมีสัดส่วนของเซลล์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาเพิ่มขึ้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

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 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. Human corneal epithelial cells were isolated from cornea provided by Eye Bank of Thailand, Thai Red Cross Society and they were used as positive control for comparing with corneal epithelial differentiated WJ-MSCs. The WJ-MSCs can be induced to differentiate into corneal epithelial cells by the induction medium as revealed by CK12 positive stain. CK12, a cytoskeleton specifically expressing in corneal epithelial cells, was expressed after differentiation induction. However, CK3 which is another specific marker of corneal epithelial cells was not expressed. The results revealed that the complete differentiation cannot be achieved from this induction condition. Therefore, the induction of corneal epithelial differentiation need to be further investigated for better outcome. Extraordinary signaling molecules should be added into the induction medium to induce the complete corneal epithelial differentiation and gain higher yield of corneal epithelial differentiated cells.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ .....ก
บทคัดย่อภาษาไทย .....ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....ค
สารบัญ .....ง
สารบัญตาราง .....ฉ
สารบัญภาพ .....ช
บทที่

1 บทนำ 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย 1

1.3 ขอบเขตของการวิจัย 2

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย 2

1.5 เป้าหมายการวิจัย 2

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง 3

2.2 ศักยภาพองค์ความรู้เทคโนโลยีและนวัตกรรมที่จะพัฒนา 5

2.2.1 ขนาดและแนวโน้มของตลาด/โอกาสทางการตลาด 5

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 5

3 วิธีการดำเนินการวิจัย 7

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.1 การเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกมนุษย์ 7

3.2 การตรวจสอบคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ 7

3.2.1 การเลี้ยงเซลล์และการตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ (Colony forming unit (CFU) assay) 7

3.2.2 การตรวจสอบระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Population doubling time, PDt) 8

3.2.3 การตรวจสอบโปรตีนที่ผิวเซลล์ด้วยวิธีโฟลไซโทเมทรี (Flow cytometry) 8

3.2.4 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่างๆ 9

3.3 การเหนี่ยวนำ hWJ-MSCs ให้เปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตา 10

4 ผลการดำเนินงานวิจัย 11

4.1 ผลการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ 11

4.1.1 ผลการตรวจสอบการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ 11

4.1.2 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า 12

4.1.3 การตรวจสอบโปรตีนที่ผิวเซลล์ด้วยวิธีโฟลไซโทเมทรี 13

4.2 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ 15

4.3 การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตา 16

5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 18

บรรณานุกรม 21

ประวัติผู้วิจัย 24

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์จากการวิเคราะห์โดยวิธีโฟลไซโตเมทรี.....13

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ ของเซลล์สายพันธุ์ MSC03 และ MSC08 11
รูปที่ 2 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์ MSC03 และ MSC08 12
รูปที่ 3 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธีโฟลไซโตเมทรีของเซลล์สายพันธุ์ MSC03 13
รูปที่ 4 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธีโฟลไซโตเมทรีของเซลล์สายพันธุ์ MSC08 14
รูปที่ 5 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC03 15
รูปที่ 6 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC08 16
รูปที่ 7 เซลล์ที่ถูกย้อมด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ CK12 (สีแดง) แอนติบอดีที่จำเพาะต่อ CK19 (สีเขียว) และ ย้อมนิวเคลียสด้วย DAPI (สีน้ำเงิน) 17

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เยื่อบุผิวกระจกตามนุษย์ที่ตั้งอยู่บริเวณพื้นผิวกระจกตาทำหน้าที่ในการคงสภาพความใสของกระจกตาและช่วยดูดซับสารอาหารและออกซิเจน โดยเยื่อบุผิวกระจกตานั้นมีการปรับสมดุลผลัดเปลี่ยนเซลล์โดยกลุ่มของเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาที่อยู่ตรงตำแหน่ง limbus เมื่อเกิดความเสียหายตรงบริเวณดังกล่าว ซึ่งอาจเกิดจากสาเหตุต่างๆ เช่น สาเหตุทางกายภาพ, อุณหภูมิ, สารเคมี หรือ ภูมิคุ้มกันบกพร่อง ทำให้เกิดความเสียหายอย่างถาวรต่อเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตา ทำให้เกิดภาวะผิวกระจกตาเสื่อม (limbal stem cell deficiency, LSCD) ซึ่งภาวะดังกล่าวทำให้กระจกตาสูญเสียความชัดเจนและลดการมองเห็นจนถึงขั้นตาบอด อีกทั้งทำให้เกิดภาวะต่างๆตามมา เช่น เกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่, การเกิดเยื่อบุผิวกระจกตาลดลง และเกิดความขุ่นของกระจกตา

ในปัจจุบันการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาได้มีการนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะผิวกระจกตาเสื่อม มีรายงานการประสบความสำเร็จในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาโดยใช้ถุงน้ำคร่ำของทารกมนุษย์เป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามในส่วนของสายรกมนุษย์ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ซึ่งเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์นั้นยังไม่มีรายงานของการนำมาใช้ในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาเพื่อรักษาผู้ป่วยโรคภาวะผิวกระจกตาเสื่อม เนื่องจากมีการรายงานพบว่าเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากสายรกมนุษย์นั้นไม่สามารถเปลี่ยนแปลงให้กลายเป็นเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาได้อย่างสมบูรณ์ในการทดลองนอกตัวสัตว์ แต่เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากสายรกมนุษย์สามารถเปลี่ยนแปลงให้เกิดการแยกชั้นและแสดงออกตามแบบฉบับของเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาได้ในตัวสัตว์ทดลอง ดังนั้นในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงทำการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของรกมนุษย์ให้เปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาและทำการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อกระจกตาเทียมที่ได้ลงบนผิวกระจกตากระต่ายที่เป็นโมเดลภาวะผิวกระจกตาเสื่อม ซึ่งจะได้แนวทางใหม่ในการประยุกต์ใช้เซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาเพื่อนำมารักษาผู้ป่วยที่มีภาวะผิวกระจกตาเสื่อมต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความสามารถของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ในการเหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตา

2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาที่ได้มาจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ในการรักษากระต่ายที่เป็นโมเดลภาวะผิวกระจกตาเสื่อม

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ทำการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตา และทำการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาที่ได้มาจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์นำมาใช้ในการรักษากระต่ายที่เป็นโมเดลภาวะผิวกระจกตาเสื่อม

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์สามารถเหนี่ยวนำให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาได้และสามารถนำเนื้อเยื่อเซลล์กระจกตาที่ได้มาปลูกถ่ายลงบนผิวกระจกตากระต่ายที่เป็นโมเดลภาวะผิวกระจกตาเสื่อมและสามารถรักษารอยโรคที่เป็นภาวะผิวกระจกตาเสื่อมให้มีการฟื้นฟูที่ดีขึ้นได้

1.5 เป้าหมายการวิจัย

ผลิตวัสดุทางชีวภาพเซลล์กระจกตาจากการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์และได้วิธีการที่มีประสิทธิภาพในการผลิตวัสดุทางชีวภาพจากเซลล์กระจกตาที่ได้จากการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ อีกทั้งยังได้กระบวนการในการปลูกถ่ายเซลล์กระจกตาในการรักษากระต่ายที่เป็นโมเดลภาวะผิวกระจกตาเสื่อมอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง

กระจกตามนุษย์ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ชั้นหลัก ได้แก่ เยื่อบุผิวชั้นนอก, เนื้อเยื่อโครงตา และเยื่อบุผิวชั้นใน การรักษาสมดุลของของเยื่อบุผิวและเนื้อเยื่อโครงของกระจกตานั้นมีความสำคัญต่อความสมบูรณ์ของพื้นผิวดวงตา ความโปร่งใสของกระจกตาและการมองเห็น (Williams และคณะ, 2013) หน้าที่หลักของเยื่อบุผิวกระจกตาคือการทำให้ผิวกระจกตาอ่อนนุ่มจากการทำปฏิกิริยากับแผ่นน้ำตาและทำหน้าที่เป็นด่านป้องกันจุลชีพก่อโรค, สารเคมี และการบาดเจ็บทางกายภาพ (Krachmer และคณะ, 2005) เปรียบเสมือนเป็นปราการด่านแรกในการรับความเสียหายของกระจกตา เยื่อบุผิวกระจกตาเป็นส่วนที่ได้รับความเสียหายได้ง่ายจากภายนอกซึ่งส่งผลเสียต่อหน้าที่ในการป้องกันดังกล่าวข้างต้น เมื่อกระจกตาได้รับความเสียหายจะมีการเกิดใหม่ของเยื่อบุผิวกระจกตาเกิดขึ้นแบ่งออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่ การเคลื่อนย้าย, การแบ่งตัวเพิ่มจำนวน และการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่ของเยื่อบุผิวกระจกตา การเกิดใหม่ของเยื่อบุผิวกระจกตาเกิดขึ้นจากกลุ่มเซลล์ต้นกำเนิดในชั้นของเซลล์ที่อยู่บริเวณ limbus การคงสภาพและการทำหน้าที่ของเซลล์ต้นกำเนิดถูกควบคุมจากหลายปัจจัยด้วยสภาพแวดล้อมระดับจุลภาคที่จำเพาะ (Blazejewska และคณะ, 2009) ซึ่งอาจมีปัญหาในระหว่างการสร้างเยื่อบุผิวเกิดขึ้น เช่น การเคลื่อนย้ายเซลล์ล่าช้า, การเพิ่มขนาดของเซลล์เยื่อบุผิว, การหลุดลอกของกระจกตา และนำไปสู่การเกิดแผลที่เนื้อเยื่อโครงกระจกตาทำให้ประสิทธิภาพในการมองเห็นลดต่ำลง (Choi และคณะ, 2013) ความเสียหายที่รุนแรงต่อเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาทำให้เกิดภาวะผิวกระจกตาเสื่อม (limbal stem cell deficiency, LSD) ทำให้เกิดผลเสียตามมาต่อผิวดวงตาและการมองเห็นซึ่งอาจทำให้ถึงขั้นสูญเสียการมองเห็น (Saichanma และคณะ, 2012)

ภาวะผิวกระจกตาเสื่อมเป็นความเสียหายขั้นรุนแรงที่เกิดจากการบกพร่องของเซลล์โปรเจนนิเตอร์ของเยื่อบุผิวกระจกตา (Ordonez และคณะ, 2012) การบาดเจ็บ, โรค หรือ ความผิดปกติบริเวณ limbus ซึ่งเปรียบเสมือนแหล่งกักเก็บของเซลล์ต้นกำเนิดบริเวณเยื่อบุผิวกระจกตา จากสาเหตุดังกล่าวจึงทำให้เกิดภาวะนี้ขึ้น ลักษณะของโรคนี้จะมีการเคลื่อนตัวของเยื่อบุตาขาวซึ่งทำให้มีการเกิดของหลอดเลือดใหม่, การตอบสนองการอักเสบอย่างเรื้อรังและการเกิดแผลที่เนื้อเยื่อโครงกระจกตาเป็นสาเหตุให้กระจกตาขุ่นและสูญเสียการมองเห็น (O'Callaghan และคณะ, 2011) พื้นผิวของกระจกตานั้นไม่สามารถซ่อมแซมได้ เว้นแต่จะทำการปลูกถ่ายเยื่อบุผิวกระจกตา หรือเซลล์ที่เท่าเทียมกัน เช่น เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ (Ma et al. 2006) หรือเซลล์เยื่อบุผิวช่องปาก (Nishida และ

คณะ, 2004) ยิ่งไปกว่านั้นการใช้วัสดุชีวภาพสามารถใช้เป็นตัวรองรับเซลล์ที่สามารถพัฒนาประสิทธิภาพในการขยายจำนวนเซลล์ได้เช่นเดียวกับเนื้อเยื่อปลูกถ่าย (Ordonez และคณะ, 2012)

การปลูกถ่ายเนื้อเยื่อเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตามีความเป็นไปได้ในการรักษาความผิดปกติของเยื่อบุผิวกระจกตา วิธีดังกล่าวสามารถปลูกถ่ายเนื้อเยื่อ limbus โดยตรงหรือปลูกถ่ายทางอ้อมโดยการเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนเซลล์ในห้องทดลอง แล้วเปลี่ยนแปลงเป็นวัสดุชีวภาพหรือจากการสังเคราะห์ (Levis และคณะ, 2010) แต่วิธีการนี้ต้องอาศัยการเก็บชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ limbus จากตาอีกด้านหนึ่งที่ไม่เป็นโรคของผู้ป่วยเอง ซึ่งใช้ไม่ได้ในกรณีที่ผู้ป่วยมีภาวะผิวกระจกตาเสื่อมทั้ง 2 ข้าง ในกรณีนี้จึงมีการใช้เซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาจากผู้บริจาคคนอื่นในการปลูกถ่ายด้วยการยับยั้งระบบภูมิคุ้มกันระยะยาว (Eberwein และคณะ, 2012) แต่พบว่าวิธีการนี้ไม่ประสบผลสำเร็จในระยะยาวเทียบกับการปลูกถ่ายจากเซลล์ต้นกำเนิดของตัวผู้ป่วยเอง เนื่องจากเซลล์ต้นกำเนิดยังคงต้องอาศัยคุณสมบัติทางภูมิคุ้มกันสำหรับใช้ในการเกิดใหม่ของเยื่อบุผิวกระจกตา จึงมีการทดลองใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อแหล่งต่างๆที่มีภูมิคุ้มกันต่ำมาใช้ในการปลูกถ่ายแทนที่เยื่อบุผิวกระจกตา เช่น เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน (Ahmad และคณะ, 2007), เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากไขกระดูก (Liu และคณะ, 2008), เซลล์ต้นกำเนิดจากรากผม (Meyer-Blazejewska และคณะ, 2011), เซลล์ต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อโครงกระจกตา (Hashmani และคณะ, 2013), เซลล์ต้นกำเนิดจากรากฟันอ่อน (Gomes และคณะ, 2010), และเซลล์เยื่อบุช่องปาก (Nishida และคณะ, 2004) เป็นต้น

ปัจจุบันมีรายงานการพัฒนาการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อบุผิวกระจกตาจากถุงน้ำคร่ำซึ่งประสมความสำเร็จในการรักษาภาวะผิวกระจกตาเสื่อม (Kolli และคณะ, 2010) ถึงกระนั้นวิธีนี้ก็ยังมีข้อเสียในการรักษาที่สามารถปลูกถ่ายให้ผู้ป่วยที่มีภาวะผิวกระจกตาเสื่อมกรณีที่มีความผิดปกติข้างเดียวเท่านั้น ในขณะที่ดวงตาอีกข้างหนึ่งที่ไม่ผิดปกติจะได้รับความเสียหายจากการทำการศัลยกรรมนั้นจึงเป็นสิ่งที่น่าวิตกสำหรับผู้ป่วยภาวะกระจกตาเสื่อมส่วนใหญ่ อีกทั้งมีรายงานจากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกมนุษย์สามารถเหนี่ยวนำให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวหนังและเซลล์เยื่อบุช่องปากได้ (Garzón และคณะ, 2014) อย่างไรก็ตามยังไม่มีการรายงานการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกมนุษย์ไปเป็นเยื่อบุผิวกระจกตา รวมถึงการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อเซลล์ต้นกำเนิดเยื่อบุผิวกระจกตาที่ได้จากวิธีการข้างต้นในการนำมาใช้รักษาผู้ป่วยที่มีภาวะผิวกระจกตาเสื่อม

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะใช้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกมนุษย์โดยเหนี่ยวนำให้เปลี่ยนแปลงเป็นเยื่อบุผิวกระจกตาเพื่อสร้างเนื้อเยื่อกระจกตาเทียมโดยใช้พื้นฐานทางวัสดุชีวภาพและหลักการวิศวกรรมเนื้อเยื่อ แล้วนำมาปลูกถ่ายบนผิวกระจกตาของกระต่ายสัตว์ทดลองเพื่อรักษากระต่ายที่เป็นโมเดลภาวะผิวกระจกตาเสื่อมและทำการประเมินประสิทธิภาพในการรักษาหลังการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อบุผิวกระจกตา

2.2 ศักยภาพองค์ความรู้เทคโนโลยีและนวัตกรรมที่จะพัฒนา

2.2.1 ขนาดและแนวโน้มของตลาด/โอกาสทางการตลาด

ในปัจจุบันยังไม่มีหน่วยงานของรัฐและภาคเอกชนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทางด้านเซลล์ต้นกำเนิด ทีสามารถเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์กระจกตา เพื่อนำเซลล์ที่ได้ไปสร้างวัสดุชีวภาพสำหรับทดแทนเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาของผู้ป่วยที่มีภาวะเยื่อบุผิวกระจกตาเสื่อมได้ ซึ่งวัสดุทางชีวภาพที่ทำการคิดค้นได้นั้นจะสามารถสร้างมูลค่าให้แก่หน่วยงานที่ทำการวิจัยรวมถึงมหาวิทยาลัย อีกทั้งยังมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถนำเทคโนโลยีและองค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยนี้ไปประยุกต์เพื่อเพิ่มขนาดการผลิตและขยายตลาดสู่หน่วยงานทางการแพทย์ภายในประเทศ เพื่อลดค่าใช้จ่ายจากการนำเข้าวัสดุชีวภาพที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยจากต่างประเทศ และมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถขยายตลาดจนถึงการส่งออกภายนอกประเทศไปสู่ตลาดระดับสากล เพื่อเพิ่มรายได้เข้าสู่ประเทศ

2.2.2 ลักษณะเฉพาะ/ความใหม่ของผลงานวิจัยที่แตกต่างจากที่มีในปัจจุบัน

เนื่องจากงานวิจัยในครั้งนี้เป็นการคิดค้นการผลิตวัสดุทางชีวภาพที่ได้จากการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์กระจกตาเป็นที่แรกในประเทศไทย ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงต้องการที่จะสร้างวัสดุทางชีวภาพที่มีคุณภาพมากที่สุด โดยให้อยู่ในระดับมาตรฐานสากล เพื่อเป็นแบบอย่างและแนวทางที่ดีแก่หน่วยงานวิจัยที่เกี่ยวกับกับเซลล์ต้นกำเนิดทั่วประเทศที่จะนำเทคโนโลยีและองค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยนี้ไปประยุกต์ เพื่อพัฒนาการรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะผิวกระจกตาเสื่อม รวมถึงต่อยอดแนวคิดนี้ในการนำไปใช้รักษาโรคต่างๆ เพื่อยกระดับสุขภาพของคนในประเทศต่อไปในภายภาคหน้า

2.3 ผลกระทบของโครงการที่มีต่อสังคม ในรูปแบบของการกระจายรายได้ (Income distribution) และการแก้ไขปัญหาของชุมชน

2.3.1 ความต้องการของชุมชน/ปัญหาของชุมชน

โรงพยาบาลต่างๆทั้งภาครัฐและเอกชนต้องการแนวทางและวิธีการรักษาอาการของผู้ป่วยที่มีภาวะเยื่อบุผิวกระจกตาเสื่อม รวมถึงเพื่อใช้ต่อยอดในการรักษาผู้ป่วยด้วยการปลูกถ่ายเซลล์ที่ได้จากการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ รวมถึงต่อยอดแนวคิดนี้ในการนำไปใช้รักษาโรคต่างๆ เพื่อยกระดับสุขภาพของคนในประเทศต่อไปในภายภาคหน้า

2.3.2 ผลกระทบที่เกิดจากงานวิจัยในรูปแบบของการลดผลกระทบทางลบ หรือขยายผลกระทบทางบวก

งานวิจัยในครั้งนี้เป็นการคิดค้นการผลิตวัสดุทางชีวภาพที่ได้จากการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรกมนุษย์ไปเป็นเซลล์กระจกตา ซึ่งวัสดุทางชีวภาพที่ทำการคิดค้นได้นั้นจะ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สามารถสร้างมูลค่าให้แก่หน่วยงานที่ทำการวิจัยรวมถึงมหาวิทยาลัยและสามารถนำเทคโนโลยีและองค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยนี้ไปประยุกต์เพื่อเพิ่มขนาดการผลิตและขยายตลาดสู่หน่วยงานทางการแพทย์ภายในประเทศ เพื่อลดค่าใช้จ่ายจากการนำเข้าวัสดุชีวภาพที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยจากต่างประเทศ และสามารถขยายตลาดจนถึงการส่งออกภายนอกประเทศไปสู่ตลาดระดับสากล เพื่อเพิ่มรายได้เข้าสู่ประเทศ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 การเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกมนุษย์

นำสายรกมนุษย์ 2 ตัวอย่าง จากผู้บริจาคสุขภาพดีที่ผ่านการลงนามยินยอมจากผู้เข้าร่วมวิจัยตามข้อกำหนดของคณะกรรมการการวิจัยในมนุษย์ของสถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (Ethics Committee for Researches Involving Human Subjects, Suranaree University of Technology) ตามเอกสารรับรองโครงการวิจัยในมนุษย์เลขที่ EC-61-57 นำมาตัดให้มีความยาวชิ้นละ 5 ซม. และล้างเลือดออกด้วยสารละลาย Phosphate-buffered saline (PBS) จากนั้นกำจัดเส้นเลือดและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ออก หลังจากนั้นตัดเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ให้เป็นขนาด 2-5 มม. แล้วนำมาเลี้ยงในน้ำยา alpha modification of Eagle's medium (α-MEM) ซึ่งประกอบด้วย 2 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin และ 100 µg/ml streptomycin, 10% fetal bovine serum (FBS) โดยเริ่มเลี้ยงใน 6-well dish และเปลี่ยนน้ำยาทุก 3 วัน จากนั้นเลี้ยงเพิ่มจำนวน (passage) จนมีมีความหนาแน่นของเซลล์ที่ 80% จนกระทั่งถึง passage ที่ 3 จึงนำเซลล์ไปแช่แข็งแล้วเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลว ซึ่งได้มีการเปลี่ยนวิธีการทำการทดลองตามที่ Tanthaisong และคณะ (2017) รายงานไว้ ซึ่งมีเป็นวิธีล่าสุดที่มีประสิทธิภาพในการคัดแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่

3.2 การตรวจสอบคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์

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. เพื่อเปรียบเทียบจำนวนโคโลนีที่สร้างทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยเทียบกับจำนวนเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ตั้งต้น โดยคำนวณจากสูตร

% CFU = (จำนวนโคโลนีที่นับได้ x 100)/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 และนำเซลล์ที่ไม่ได้ย้อมไปเลี้ยงต่อแบบเดิมจนถึง Passage ที่ 10 โดยทำทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ แล้วหา PDt ตามสูตร

PDt = (t x log2/(logNH-logNI)

NI คือจำนวนเซลล์เริ่มต้น

NH คือจำนวนเซลล์ที่เก็บได้

t คือระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเซลล์ (ชั่วโมง)

3.2.3 การตรวจสอบโปรตีนที่ผิวเซลล์ด้วยวิธีโฟลไซโทเมทรี (Flow cytometry)

ตรวจสอบหาคุณสมบัติของการเปนเซลลต้นกำเนิดด้วยการตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลลที่จำเพาะตอเซลลตนกำเนิด ได้แก่ CD73, CD90 และ CD105 และจะต้องไมมีการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลลของ CD34 และ CD45 ซึ่งเปน negative marker โดยเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ passage 5 ในรูปสารแขวนลอยของเซลล์ใน PBS(-) จากนั้นเติมแอนติบอดีที่จำเพาะตอโปรตีนที่ต้องการตรวจสอบโดยเป็นแอนติบอดีที่ติดสารเรืองแสงอยู่แล้ว ทิ้งไวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที ต่อมาล้าง 3 ครั้งด้วยบัฟเฟอร์ จากนั้นจึงปั่นเหวี่ยงแยกนำเซลล์ที่ได้มาเตรียมในรูปสารแขวนลอยของเซลล์ที่มีความหนาแน่นเซลล์เป็น 1×10^6 เซลล์ ปริมาตร 1 มล. แล้วจึงไปวิเคราะห์สัดส่วนของเซลล์ที่ติดสีย้อมต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมดด้วยเครื่องโฟลไซโทมิเตอร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2.4 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่างๆ

3.2.4.1. การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์กระดูก (Osteocyte)

นำเซลล์ที่ passage 5 มาใช้ โดยทำการเลี้ยงเซลล์ใน 4-well plate ที่เคลือบด้วย 0.1% gelatin ประมาณ 1.5×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบไปด้วย α-MEM ที่เติมด้วย 10% FBS, 10 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin, 100 µl/ml streptomycin เลี้ยงและเปลี่ยนน้ำยาทุกๆ 3 วัน จนกระทั่งเซลล์มีความหนาแน่นประมาณ 80% นำมาเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์กระดูก โดยขั้นตอนการเหนี่ยวนำจะแยกเป็นกลุ่ม control โดยใช้น้ำยาที่ไม่มีซีรั่มเพื่อใช้สำหรับเติมสารที่ใช้เหนี่ยวนำ ในที่นี่เรียกว่า medium for differentiation ประกอบด้วย α-MEM ที่เติมด้วย 10 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin, 100 µl/ml streptomycin และกลุ่มที่เหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์กระดูก จะเติม 100 nM dexamethasone, 50 µM ascorbate-2-phosphate, 10 µM β-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. การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ไขมัน (Adipocyte)

นำเซลล์ที่ passage ที่ 5 มาใช้ และทำการเลี้ยงเซลล์ 1.5×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร ใน 4-well plate ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบไปด้วย α-MEM ที่เติมด้วย 10% FBS, 10 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin, 100 µl/ml streptomycin จนได้ความหนาแน่น 80% ซึ่งเลี้ยงโดยใช้น้ำยาที่ทำให้เกิด differentiation เป็นเซลล์ไขมัน ซึ่งเติมด้วย 10 µM insulin, 60 µM indomethacin, 1 µM 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. การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน (Chondrocyte)

นำเซลล์ที่ passage 5 มาใช้ และทำการเลี้ยงเซลล์ 1.5×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร ใน 4-well plate ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบไปด้วย α-MEM ที่เติมด้วย 10% FBS, 10 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin, 100 µl/ml streptomycin จนได้ความหนาแน่น 80% จากนั้นทำการเหนี่ยวนำเซลล์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน ซึ่งเลี้ยงโดยใช้น้ำยาที่ทำให้เกิด differentiation ซึ่งเติมด้วย 10 µg/ml insulin-transferrin-selenium-ethanolamine (ITS-X), 50 µg/ml ascorbate 2-phosphate, 40 µg/ml L-proline, 100 µg/ml sodium pyruvate, 100 nM dexamethasone, 10 ng/ml, transforming growth factor beta 3 (TGF-β3) และ 2% FBS ทำการเหนี่ยวนำเซลล์เป็นระยะเวลา 21 วัน และเปลี่ยนน้ำยาเหนี่ยวนำเซลล์ทุกๆ 3 วัน โดยน้ำยาที่ใช้เหนี่ยวนำจะเตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง สังเกตและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่จะมีลักษณะจำเพาะของเซลล์กระดูกอ่อน โดยใช้กล้อง inverted microscope จากนั้นตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นเซลล์กระดูกอ่อน โดยย้อมสี Alcian blue เพื่อตรวจสอบการสร้าง glycosaminoglycan extracellular matrix ของเซลล์ที่ถูกเหนี่ยวนำภายใต้กล้อง inverted microscope

3.3 การเหนี่ยวนำ hWJ-MSCs ให้เปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตา

นำเซลลที่ passage ที่ 5 มาใช้ และทำการเลี้ยงเซลล์จำนวน 1.5×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร ใน 4-well plate ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบไปด้วย α-MEM ที่เติมด้วย 10% FBS, 10 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin, 100 µl/ml streptomycin จนได้ความหนาแนน 80% ซึ่งเลี้ยงโดยใช้น้ำยาที่ทำให้เกิด differentiation เปนเซลลเยื่อบุผิวกระจกตา ซึ่งเปน DMEM ที่เติมด้วย 2% FBS, 20 ng/mL epidermal growth factor (EGF), 10 ng/mL keratinocyte growth factor (KGF), 10 ng/mL hepatocyte growth factor (HGF), 2.5 µM all-trans retinoic acid (ATRA) และ 0.5 µg/mL Hydrocortisone แล้วเหนี่ยวนำเซลลจนครบ 3 วัน จากนั้นตรวจสอบคุณสมบัติการเปนเซลลเยื่อบุผิวกระจกตา โดยวิธี Immunocytochemistry ด้วยการย้อมสารเรืองแสงที่จำเพาะต่อ cytokeratin 3 และ cytokeratin 12 ซึ่งเปนโครงรางภายในเซลล (cytoskeleton) ที่พบในเซลลเยื่อบุผิวกระจกตา

บทที่ 4

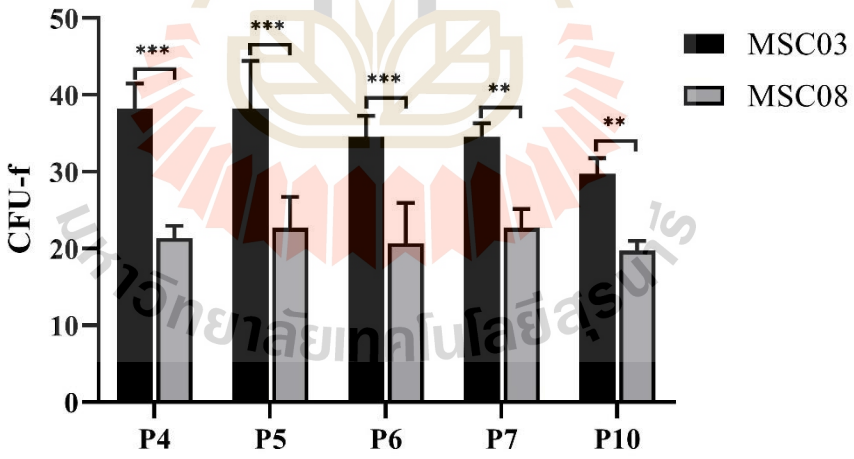
ผลการดำเนินงานวิจัย

4.1 ผลการตรวจสอบเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่

สายรกมนุษย์จำนวน 2 ตัวอย่าง ถูกนำมาแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ได้สำเร็จ ได้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จำนวน 2 สายพันธุ์ กำหนดชื่อเป็น MSC03 และ MSC08 นำเซลล์ที่ได้มาวิเคราะห์คุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ ได้แก่ โปรตีนที่ผิวเซลล์ การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่น (เซลล์กระดูก เซลล์ไขมัน และ เซลล์กระดูกอ่อน) ได้ผลดังนี้

4.1.1 ผลการตรวจสอบการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์

ผลการตรวจสอบการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ของเซลล์สายพันธุ์ MSC03 และ MSC08 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 ดังแสดงในรูปที่ 1 การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ของเซลล์สายพันธุ์ MSC03 passage 4, 5, 6, 7 และ 10 อยู่ในช่วง 29.17±2.47 ถึง 38.17±6.25 การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ของเซลล์สายพันธุ์ MSC08 ซึ่งอยู่ในช่วง 19.67±1.26 ถึง 22.67±4.07 โดยที่การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ของเซลล์สายพันธุ์ MSC03 สูงกว่า การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ของเซลล์สายพันธุ์ MSC08 ในทุก passage อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

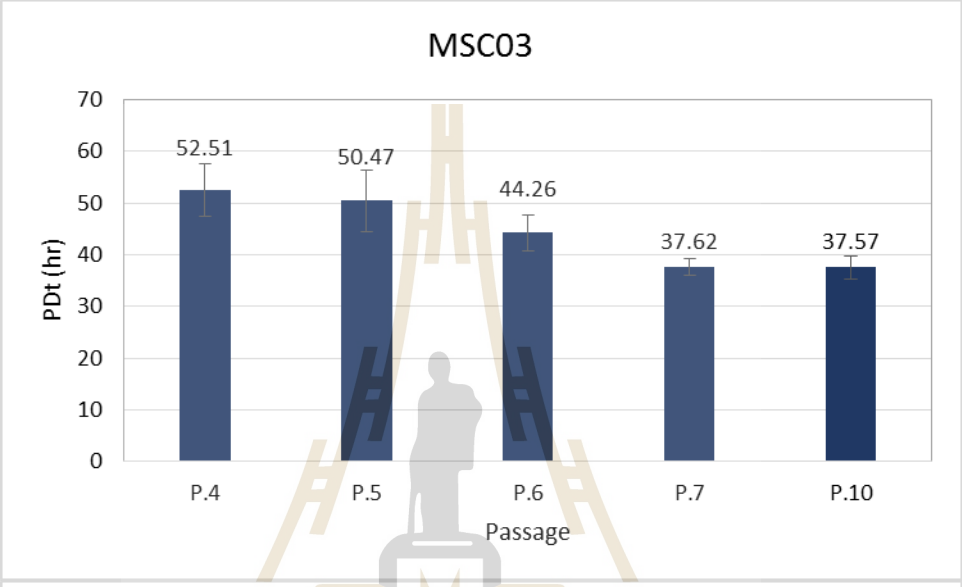


รูปที่ 1 การสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ ของเซลล์สายพันธุ์ MSC03 และ MSC08 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 (*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ANOVA)

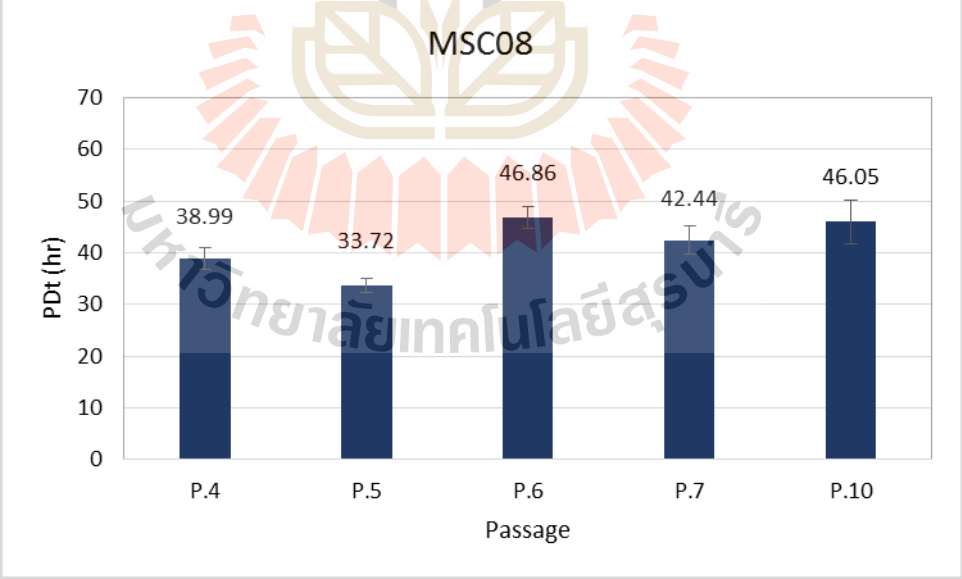
4.1.2 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า

ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์สายพันธุ์ MSC03 และ MSC08 ดังแสดงในรูปที่ 2 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์สายพันธุ์ MSC03 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 มีค่าเป็น 52.51 ± 5.17, 50.47 ± 5.93, 44.26 ± 3.38, 37.62 ± 1.54 และ 37.57 ± 2.25 ตามลำดับ ในขณะที่เซลล์สายพันธุ์ MSC08 ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 มีค่าเป็น 38.99 ± 2.09, 33.72 ± 1.44, 46.86 ± 2.09, 42.44 ± 2.77 และ 46.05 ± 4.20 ตามลำดับ

(a)



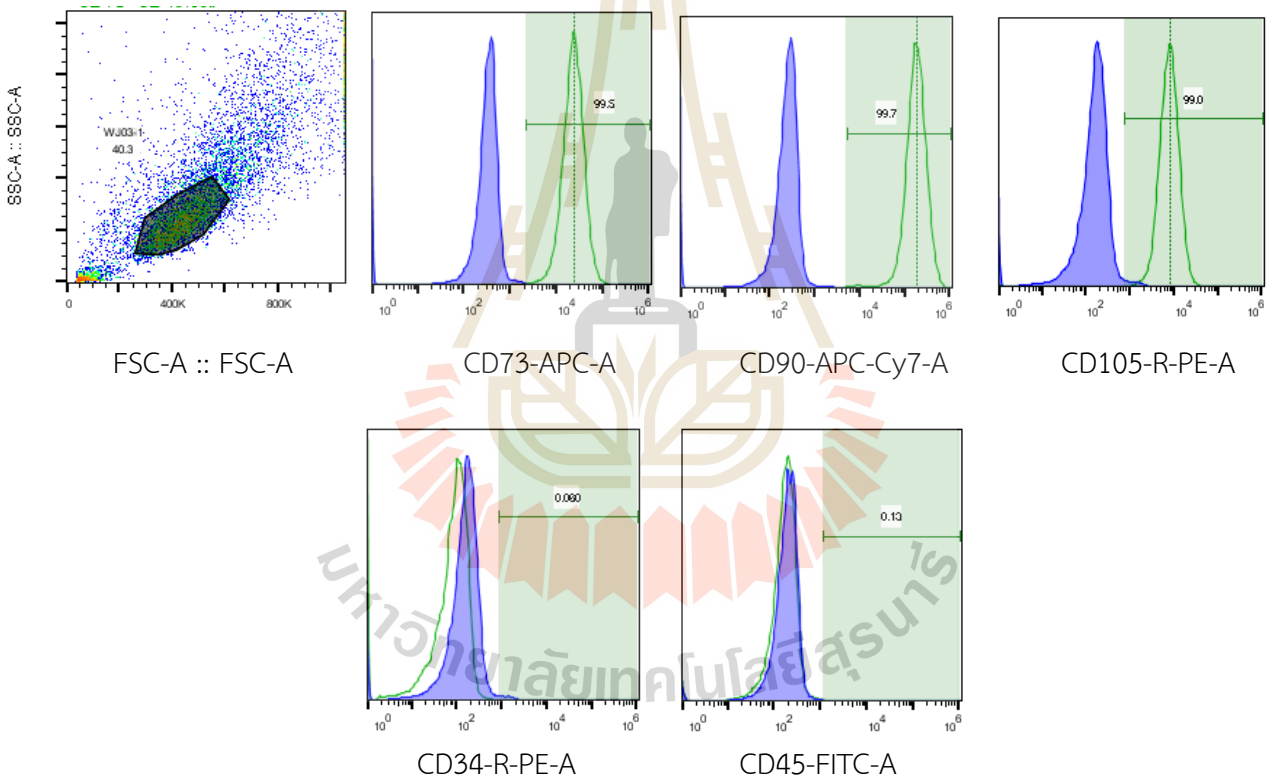
(b)



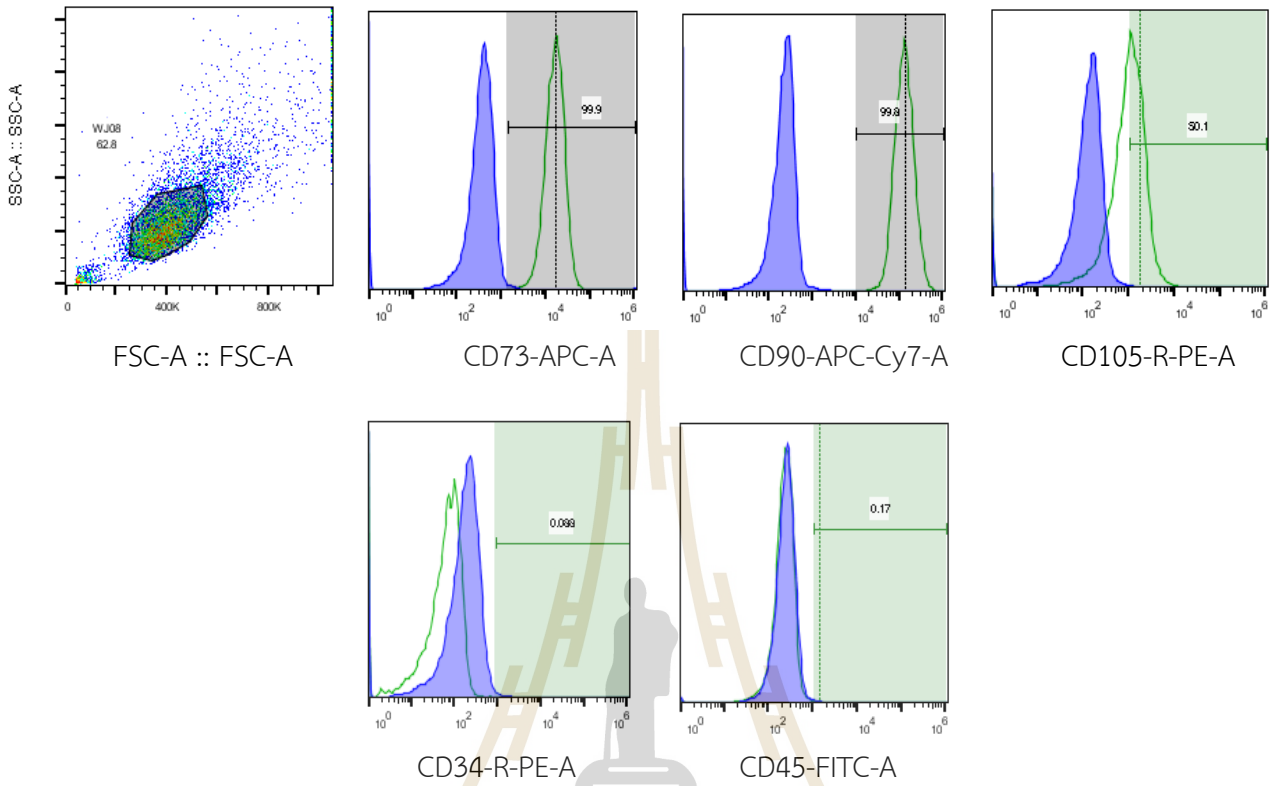
รูปที่ 2 ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ของเซลล์ (a) MSC03 และ (b) MSC08

4.1.3 การตรวจสอบโปรตีนที่ผิวเซลล์ด้วยวิธีโฟลไซโทเมทรี

โปรตีนบนผิวเซลล์ ของเซลล์สายพันธุ์ MSC03 และ MSC08 เมื่อวิเคราะห์โดยวิธีโฟลไซโตเมทรี ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 3 และ 4 ตามลำดับ และแสดงผลร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์แต่ละชนิดได้ ดังตารางที่ 1 โดยที่ CD73 CD90 และ CD105 เป็นโปรตีนที่ต้องปรากฏบนผิวเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ ส่วน CD34 และ CD45 เป็นโปรตีนที่ต้องไม่ปรากฏบนผิวเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ จากผลการวิเคราะห์เซลล์สายพันธุ์ MSC03 พบว่ามีเซลล์ที่ปรากฏ CD73 CD90 และ CD105 มากกว่าร้อยละ 95 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD34 และ CD45 น้อยกว่าร้อยละ 2 ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ของ International Society for Cell & Gene Therapy (Dominici และคณะ, 2006) ในขณะที่ เซลล์สายพันธุ์ MSC08 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD73 และ CD90 มากกว่าร้อยละ 95 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD34 และ CD45 น้อยกว่าร้อยละ 2 แต่มีเซลล์ที่ปรากฏ CD105 เพียงร้อยละ 42.940 ซึ่งต่ำกว่ามาตรฐาน



รูปที่ 3 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธีโฟลไซโตเมทรีของเซลล์สายพันธุ์ MSC03



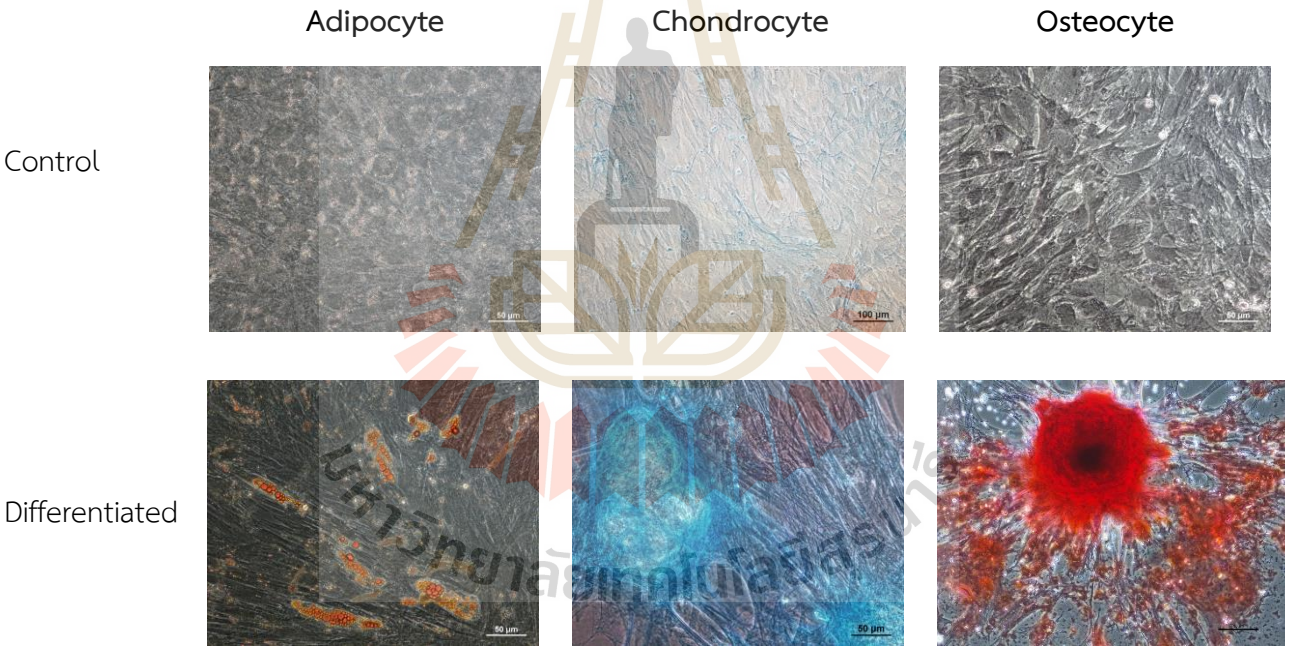
รูปที่ 4 ผลการวิเคราะห์โปรตีนที่ผิวเซลล์โดยวิธีโฟลไซโตเมทรีของเซลล์สายพันธุ์ MSC08

ตารางที่ 1 ร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์จากการวิเคราะห์โดยวิธีโฟลไซโตเมทรี

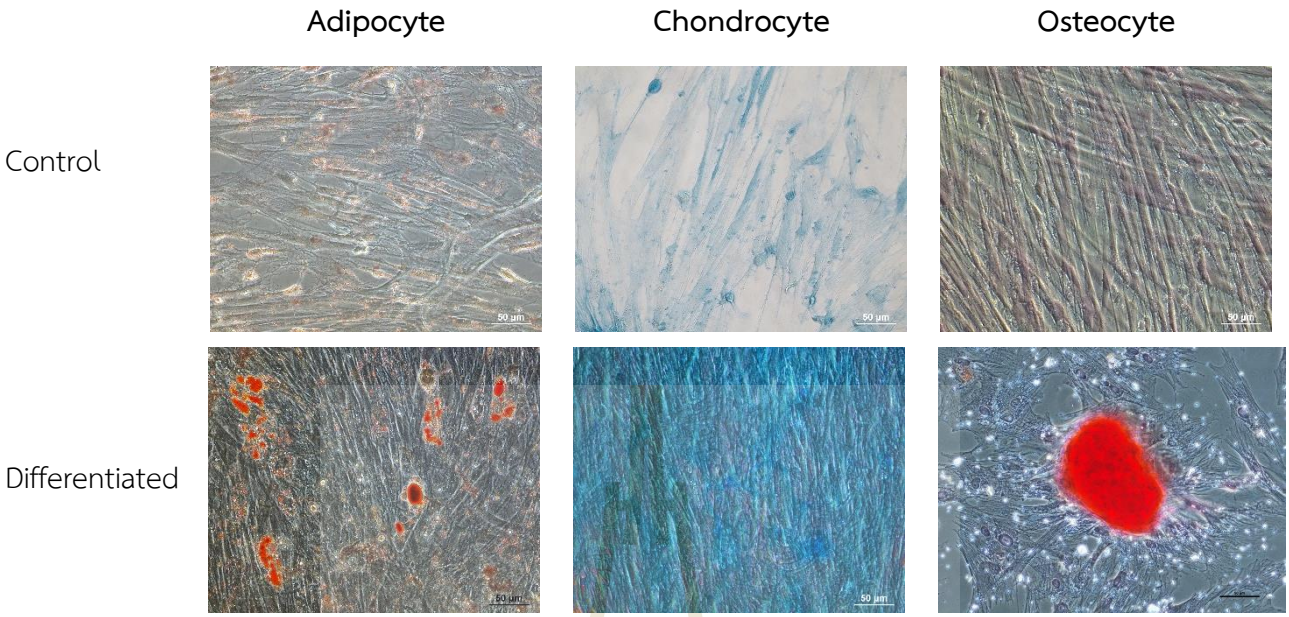
เซลล์สายพันธุ์	ร้อยละของเซลล์ที่ปรากฏโปรตีนบนผิวเซลล์				
	CD73	CD90	CD105	CD34	CD45
MSC03	99.620	99.830	99.110	0.150	0.190
MSC08	99.680	99.980	42.940	0.050	0.440

4.2 การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ

ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก โดยการใช้สารเหนี่ยวนำในอาหารเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน สำหรับเซลล์สายพันธุ์ MSC03 และ MSC08 แสดงดังรูปที่ 5 และ 6 ตามลำดับ ทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC03 และ MSC08 สามารถเปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ได้ โดยที่ในการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์ไขมัน เซลล์สายพันธุ์ MSC03 และ MSC08 สามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไขมันได้ไม่ต่างกัน เนื่องจากพบเซลล์ที่ปรากฏ lipid droplet ติดสีย้อม Oil red O ปริมาณใกล้เคียงกัน ส่วนการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน พบว่าทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC03 และ MSC08 สามารถเปลี่ยนไปเซลล์กระดูกอ่อนได้ดีเนื่องจากพบบริเวณที่ติดสีย้อม Alcian blue จำนวนมาก ในขณะที่การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์กระดูก พบว่าทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC03 และ MSC08 สามารถเปลี่ยนไปเซลล์กระดูกได้ดีเนื่องจากพบบริเวณที่ติดสีย้อม Alizarin red จำนวนมากเช่นกัน



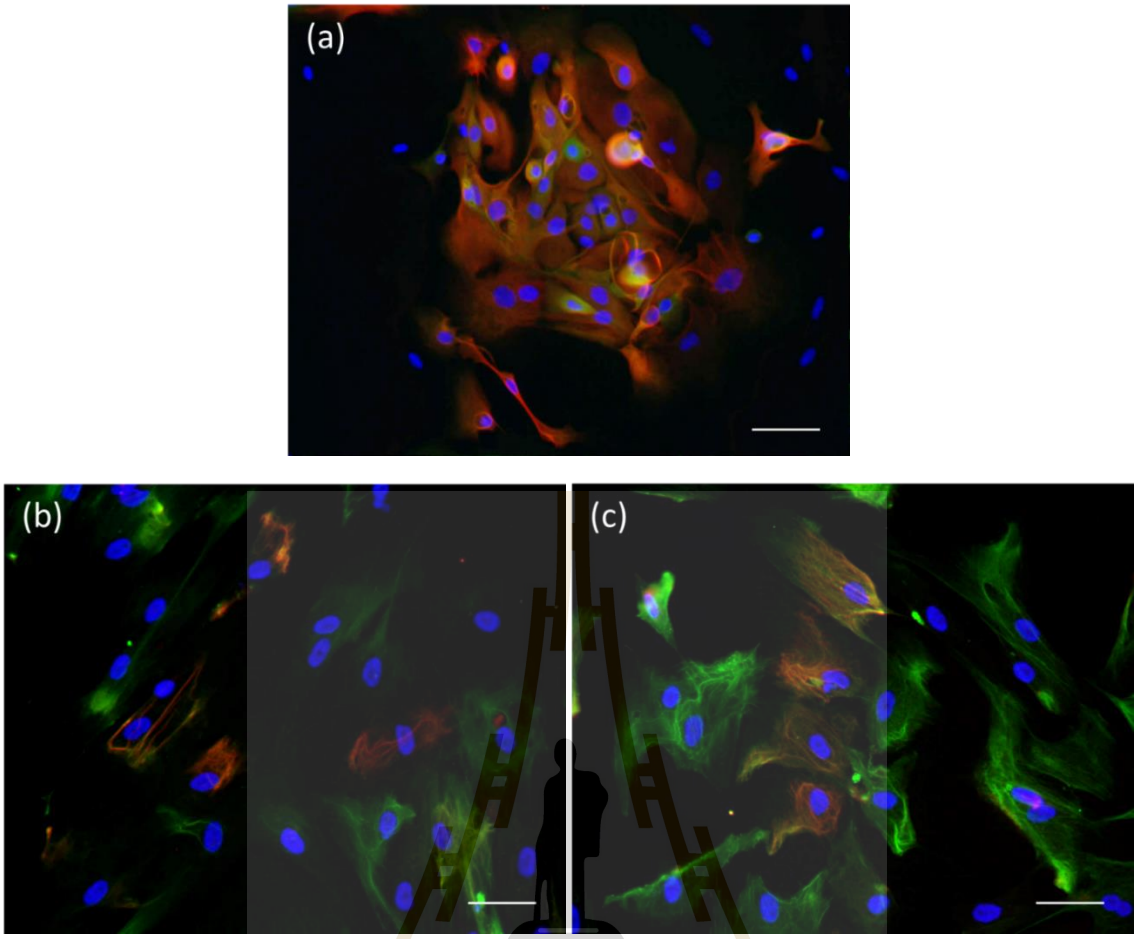
รูปที่ 5 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC03



รูปที่ 6 ผลการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ของเซลล์สายพันธุ์ MSC08

4.3 การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตา

การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเปนเซลลเยื่อบุผิวกระจกตาดำเนินการโดย การใช้น้ำยาเหนี่ยวนำ หรือ ใช้ conditioned medium ซึ่งเป็นน้ำยาที่ผ่านการใช้เพาะเลี้ยงเซลล์สโตรมา (stromal cells) ของกระจกตามนุษย์มาก่อน เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์หลังจากการเหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาเป็นเวลา 3 วัน เปรียบเทียบกับเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาที่แยกมาจากกระจกตามนุษย์ ได้ผลดังรูปที่ 7 เซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาที่แยกมาจากกระจกตามนุษย์ เกือบทั้งหมดปรากฏ cytokeratin 12 และ CK19 ในขณะที่ เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เปลี่ยนไปเปนเซลลเยื่อบุผิวกระจกตาโดยการใช้น้ำยาเหนี่ยวนำ หรือใช้ conditioned medium เป็นเวลา 3 วัน เกือบทั้งหมดปรากฏ CK19 แต่พบบางเซลล์ที่ปรากฏ CK12 ซึ่งเป็นโครงร่างภายในเซลล์ที่จำเพาะในเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตา และไม่พบเซลล์ที่ปรากฏ CK3 ซึ่งเป็นโครงร่างภายในเซลล์อีกชนิดหนึ่งที่จำเพาะในเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตา



รูปที่ 7 เซลล์ที่ถูกย้อมด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ CK12 (สีแดง) แอนติบอดีที่จำเพาะต่อ CK19 (สีเขียว) และย้อมนิวเคลียสด้วย DAPI (สีน้ำเงิน)

(a) เซลล์เยื่อบุผิวกระจกตามนุษย์

(b) เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่เพาะเลี้ยงใน conditioned medium เป็นเวลา 3 วัน

(c) เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่เพาะเลี้ยงในน้ำยาเหนี่ยวนำ เป็นเวลา 3 วัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

หมายเหตุ

เนื่องจากโครงการวิจัยนี้ได้รับงบประมาณให้ดำเนินการวิจัยปีแรกเพียงปีเดียว แต่ไม่ได้รับงบประมาณให้ดำเนินการวิจัยในปีที่ 2 และ 3 จึงได้ผลการทดลองเพียงเท่านี้

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ MSC03 และ MSC08 ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของสายรก เมื่อนำมาตรวจสอบคุณสมบัติการสร้างโคโลนีกลุ่มเซลล์ ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ การแสดงออกของของโปรตีนที่ผิวเซลล์ และ การเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่น (เซลล์กระดูก เซลล์ไขมัน และเซลล์กระดูกอ่อน) พบว่าความสามารถในการสร้างโคโลนีของกลุ่มเซลล์สายพันธุ์ MSC08 ต่ำกว่าของกลุ่มเซลล์สายพันธุ์ MSC03 แสดงว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC08 มีความสามารถในการเพิ่มจำนวนด้วยตัวเองต่ำกว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC03 ความสามารถในการสร้างโคโลนีของกลุ่มเซลล์ของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากสายรกมนุษย์ทั้งสองสายพันธุ์ที่แยกได้ใกล้เคียงกันกับผลการศึกษาของ Balgi-Agarwal และคณะ (2018) และสูงกว่าเมื่อเทียบกันกับเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากไขกระดูกมนุษย์ (Akiyama และคณะ, 2012)

ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า ใน passage ที่ 4, 5, 6, 7 และ 10 ของเซลล์สายพันธุ์ MSC03 มีค่าเป็น 37.57 ± 2.25 ถึง 52.51 ± 5.17 ชั่วโมง ในขณะที่เซลล์สายพันธุ์ MSC08 มีค่าเป็น 33.72 ± 1.44 ถึง 46.86 ± 2.09 ชั่วโมง เซลล์ทั้งสองสายพันธุ์มีอัตราเร็วในการเพิ่มจำนวนเซลล์อยู่ในช่วงที่ปกติในทุก passage ซึ่งสอดคล้องกับระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่าของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่จากสายรกมนุษย์ในรายงานการวิจัยอื่นที่ได้รายงานเอาไว้ (Li และคณะ, 2014; Yoon และคณะ, 2013)

จากการตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์ของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์สายพันธุ์ MSC03 และ MSC08 ที่ passage 5 ซึ่งถูกวิเคราะห์โดยวิธี flow cytometry ซึ่งเป็นการย้อมเซลล์แขวนลอยแล้วนับเซลล์ที่ติดสีย้อมแอนติบอดี ซึ่งวิธีการนี้เป็นวิธีที่ดีเนื่องจากจะทำให้ได้ข้อมูลสัดส่วนจำนวนเซลล์ที่ติดสีย้อมต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมดด้วย พบว่าเซลล์สายพันธุ์ MSC03 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD73 CD90 และ CD105 มากกว่าร้อยละ 95 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD34 และ CD45 น้อยกว่าร้อยละ 2 ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ของ International Society for Cell & Gene Therapy (Dominici และคณะ, 2006) และสอดคล้องกับการแยกเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากสายรกในการวิจัยก่อนหน้านี้ (L Ramos และคณะ, 2016; Maleki และคณะ, 2014) ซึ่งพบการแสดงออกของโปรตีน CD73 CD90 และ CD105 แต่ไม่ปรากฏ CD34 และ CD45 ในขณะที่เซลล์สายพันธุ์ MSC08 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD73 และ CD90 มากกว่าร้อยละ 95 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD34 และ CD45 น้อยกว่าร้อยละ 2 แต่มีเซลล์ที่ปรากฏ CD105 ต่ำกว่ามาตรฐาน

การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก โดยการใช้สารเหนี่ยวนำในอาหารเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน ทั้งเซลล์สายพันธุ์ MSC03 และ MSC08 สามารถเปลี่ยนไปเป็น เซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และเซลล์กระดูกได้ จากผลการย้อมด้วย Oil red O พบว่าเซลล์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถเปลี่ยนไปเป็นเซลล์ไขมันได้พอสมควร ในขณะผลการย้อมด้วย Alcian blue ที่บ่งชี้ความเป็นเซลล์กระดูกอ่อน และผลการย้อมด้วย Alizarin Red ที่บ่งชี้ความเป็นเซลล์กระดูก พบว่าเซลล์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถย้อมติดสีย้อมทั้งสองชนิดได้ดี แสดงว่าเซลล์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถเปลี่ยนไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อนและเซลล์กระดูกได้ดี

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ทั้งสายพันธุ์ MSC03 และ MSC08 มีระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็น 2 เท่า อยู่ในช่วงที่ปกติในทุก passage ที่ทำการวิเคราะห์ และสามารถเหนี่ยวนำให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ไขมัน เซลล์กระดูกอ่อน และ เซลล์กระดูก ได้ดี แต่เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์สายพันธุ์ MSC03 มีความสามารถในการสร้างโคโลนีสูงกว่าสายพันธุ์ MSC08 อีกทั้งผลการตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์ พบว่าสายพันธุ์ MSC03 ผ่านเกณฑ์มาตรฐานความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ ในขณะที่เซลล์สายพันธุ์ MSC08 มีเซลล์ที่ปรากฏ CD105 ต่ำกว่ามาตรฐาน ดังนั้น MSC03 จึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตา

โครงร่างภายในเซลล์ (cytoskeleton) ชนิด CK3 และ CK12 เป็นโมเลกุลที่พบเฉพาะในเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาและสามารถใช้เป็น marker บ่งชี้ความเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาได้ (Martínez García de la Torre และคณะ, 2017; Moll และคณะ, 2008; Schermer และคณะ, 1986) โครงร่างภายในเซลล์ชนิด CK19 เป็นโมเลกุลที่พบในเซลล์ต้นกำเนิดทั่วไปรวมทั้งพบในเซลล์ต้นกำเนิดบริเวณขอบกระจกตา (limbus) ซึ่งทำหน้าที่สร้างเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาด้วย (Kruse และคณะ, 1993, 1994; López-Paniagua และคณะ, 2016) ในกระบวนการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตา ได้มีการติดต่อขอเนื้อเยื่อกระจกตามนุษย์จากศูนย์ดวงตา สภากาชาดไทย มาคัดแยกเซลล์เยื่อบุผิวกระจกมนุษย์มาเป็นเซลล์ตัวอย่างเปรียบเทียบกับเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาที่ได้จากการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์จากสายรกมนุษย์ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติมสารเหนี่ยวนำในเซลล์เปลี่ยนไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาตามสูตรของ Saichanma และคณะ (2012) พบว่าสารที่ใช้สามารถเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาได้ โดยปรากฏเซลล์ที่มี CK12 แต่ไม่พบเซลล์ที่ปรากฏ CK3 แสดงให้เห็นว่าสารที่ใช้ในการทดลองเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาได้ไม่สมบูรณ์

ในรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า ถึงแม้ว่าจะสามารถเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวได้แต่มีเซลล์ต้นกำเนิดเปลี่ยนไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกได้น้อย (Soleimanifar และคณะ, 2018;

Soleimanifar และคณะ, 2017) อีกทั้งยังมีรายงานว่าหลังการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดเปลี่ยนไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาได้ไม่สมบูรณ์อีกด้วย เนื่องจากพบเซลล์ที่ปรากฏ CK3 แต่ไม่พบเซลล์ที่ปรากฏ CK12 (Saichanma และคณะ, 2012) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยต่อไปเพื่อพัฒนาน้ำยาสำหรับเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น โดยมีสัดส่วนเซลล์ต้นกำเนิดที่เปลี่ยนไปเป็นเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตาในสัดส่วนที่สูงขึ้นและสามารถเปลี่ยนไปเป็นเซลล์เยื่อบุกระจกตาได้อย่างสมบูรณ์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บรรณานุกรม

Ahmad, S., Stewart, R., Yung, S., Kolli, S., Armstrong, L., Stojkovic, M., Figueiredo, F.Lako, M. 2007. Differentiation of human embryonic stem cells into corneal epithelial-like cells by in vitro replication of the corneal epithelial stem cell niche. **Stem Cells**, 25(5): 1145-1155.

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.

Blazejewska, E. A., Schlötzer-Schrehardt, U., Zenkel, M., Bachmann, B., Chankiewitz, E., Jacobi, C.Kruse, F. E. 2009. Corneal limbal microenvironment can induce transdifferentiation of hair follicle stem cells into corneal epithelial-like cells. **Stem cells (Dayton, Ohio)**, 27(3): 642-652.

Choi, J.-S.Joo, C.-K. 2013. Wakayama symposium: new therapies for modulation of epithelialization in corneal wound healing. **The ocular surface**, 11(1): 16-18.

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.

Eberwein, P., Böhringer, D., Schwartzkopff, J., Birnbaum, F.Reinhard, T. 2012. Allogenic Limbo-keratoplasty with Conjunctivoplasty, Mitomycin C, and Amniotic Membrane for Bilateral Limbal Stem Cell Deficiency. **Ophthalmology**, 119(5): 930-937.

Garzón, I., Martín-Piedra, M. A., Alfonso-Rodríguez, C., González-Andrades, M., Carriel, V., Martínez-Gómez, C., Campos, A.Alaminos, M. 2014. Generation of a Biomimetic Human Artificial Cornea Model Using Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, 55(7): 4073-4083.

Kruse, F. E.Tseng, S. C. 1993. Growth factors modulate clonal growth and differentiation of cultured rabbit limbal and corneal epithelium. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, 34(6): 1963-1976.

Kruse, F. E.Tseng, S. C. 1994. Retinoic acid regulates clonal growth and differentiation of cultured limbal and peripheral corneal epithelium. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, 35(5): 2405-2420.

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.

López-Paniagua, M., Nieto-Miguel, T., de la Mata, A., Dziasko, M., Galindo, S., Rey, E., Herreras, J. M., Corrales, R. M., Daniels, J. T.Calonge, M. 2016. Comparison of functional limbal epithelial stem cell isolation methods. **Experimental Eye Research**, 146: 83-94.

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.

Martínez García de la Torre, R. A., Nieto-Nicolau, N., Morales-Pastor, A.Casaroli-Marano, R. P. 2017. Determination of the Culture Time Point to Induce Corneal Epithelial Differentiation in Induced Pluripotent Stem Cells. **Transplantation Proceedings**, 49(10): 2292-2295.

Moll, R., Divo, M.Langbein, L. 2008. The human keratins: biology and pathology. **Histochemistry and cell biology**, 129(6): 705-733.

Nishida, K., Yamato, M., Hayashida, Y., Watanabe, K., Maeda, N., Watanabe, H., Yamamoto, K., Nagai, S., Kikuchi, A., Tano, Y.Okano, T. 2004. Functional bioengineered corneal epithelial sheet grafts from corneal stem cells expanded ex vivo on a temperature-responsive cell culture surface. **Transplantation**, 77(3): 379-385.

Saichanma, S., Bunyaratvej, A.Sila-Asna, M. 2012. In vitro transdifferentiation of corneal epithelial-like cells from human skin-derived precursor cells. **International journal of ophthalmology**, 5(2): 158-163.

Schermer, A., Galvin, S.Sun, T. T. 1986. Differentiation-related expression of a major 64K corneal keratin in vivo and in culture suggests limbal location of corneal epithelial stem cells. **The Journal of cell biology**, 103(1): 49-62.

Soleimanifar, F., Mortazavi, Y., Nadri, S., Islami, M.Vakilian, S. 2018. Coculture of conjunctiva derived mesenchymal stem cells (CJMSCs) and corneal epithelial cells to reconstruct the corneal epithelium. **Biologicals**, 54: 39-43.

Soleimanifar, F., Mortazavi, Y., Nadri, S.Soleimani, M. 2017. Conjunctiva derived mesenchymal stem cell (CJMSCs) as a potential platform for differentiation into corneal epithelial cells on bioengineered electrospun scaffolds. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, 105(10): 2703-2711.

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.

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.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

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 ไข่ และตัวอ่อน โค-กระบือ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

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 และทำการแช่แข็งตัวอ่อนโดยวิธีวิตริฟิเคชั่น จากนั้นนำตัวอ่อนแช่แข็งเข้ามาย้ายฝากให้โคตัวรับในประเทศไทย มีลูกโคเกิดมามากกว่า 200 ตัว

6.1.2. นายธรรมนูญ ทองประไพ องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย ในการวิจัยการโคลนนิ่งพ่อโคนมพันธุกรรมดีเยี่ยมชื่อแฟคเตอร์ได้โคเกิดมา 4 ตัว มีสุขภาพแข็งแรง และน าไปผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง

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

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

6.2 ภาคเอกชน บริษัท:

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

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

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

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

6.3 มหาวิทยาลัย สถาบันอื่น ๆ:

6.3.1. ดร.ทัศนีย์ เพิ่มไทย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในการวิจัยการเพาะแยกเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อโพรงฟันมนุษย์ภายใต้สภาวะปลอดผลิตภัณฑ์จากสัตว์เพื่อประโยชน์ในการรักษา

6.3.2. รศ.นพ.กำธร พฤกษานานนท์ และ น.สพ.ดร.รัฐจักร รังสิวิวัฒน์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการวิจัยการเติม bFGF (ที่ผลิตในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี) ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนมนุษย์

7. ผลงานเด่น นวัตกรรม และผลกระทบจากผลงานนั้น ๆ ที่เกิดขึ้นในระดับชุมชน ประเทศ หรือนานาชาติ (Success stories and the impacts): เขียนเล่าเรื่อง อธิบาย หรือมีภาพประกอบ

7.1. ประสบผลสำเร็จในการย้ายฝากตัวอ่อนโคนม ได้ลูกโคแฝดเพศเมียเกิดมาเมื่อวันที่ 8 กันยายน2529 นับเป็นรายแรกของประเทศไทย (ขณะทำงาน ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ) ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของการนำการย้ายฝากตัวอ่อนไปใช้ในการเพิ่มจำนวนและปรับปรุงพันธุ์โคนมและโคเนื้อพันธุกรรมดีเยี่ยมจนถึงปัจจุบัน

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

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

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

7.4. ประสบความสำเร็จการโคลนนิ่งตัวอ่อนกระบือปลักโดยใช้เซลล์ร่างกายลูกอ่อนโคและเซลล์แกรนูโลซาเป็นเซลล์ต้นแบบ นับเป็นรายแรกของโลกที่ทำและตีพิมพ์ผลงานใน Buffalo Journal 1999, 15: 371-384. (ขณะทำงาน ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ) ทำให้ประเทศไทยได้รับการยอมรับในระดับนานาชาติทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพในสัตว์ระดับสูง โดยเฉพาะในกระบือ ทำให้ได้รับเชิญไปบรรยายในหัวข้อการโคลนนิ่งกระบือ ในการประชุม The 8th World Buffalo Congress ปี ค.ศ. 2007 ณ ประเทศอิตาลี และยังได้รับเชิญเป็น Standing Committee ของ International Buffalo Federation นอกจากนี้ยังได้ดำรงตำแหน่ง President ของ International Buffalo Federation และ Asian Buffalo Association ระหว่างปีค.ศ. 2010-2013

7.5. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งโคบราห์มันเทาเพศผู้ชื่อ “ตูมตาม” โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งจากเซลล์ต้นแบบตัวเดียวกัน 7 ตัวเกิดมา มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรงดีมาก ลูกโคทุกตัวผ่านการตรวจสอบดีเอ็นเอแล้วพบว่ามีดีเอ็นเอเหมือน“ตูมตาม”เจ้าของเซลล์ต้นแบบทุกประการ

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

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

7.8. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งโคนมขาวดำเพศผู้ชื่อ “แฟคเตอร์” โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งจากเซลล์ต้นแบบตัวเดียวกัน 4 ตัวเกิดมา มีสุขภาพแข็งแรง

7.9. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งแมวพันธุ์โคราช โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ ต้นแบบ ได้ลูกแมวโคลนนิ่งเกิดมา 2 ตัว รายแรกของประเทศไทย เมื่อวันที่ 25 ธันวาคม 2549

7.10. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งโคพันธุ์ขาวลำพูนเพศผู้ชื่อ “อินทนนท์” โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ ต้นแบบ ได้ลูกโคโคลนนิ่งเกิดมารายแรกของประเทศไทย เมื่อวันที่ 21 มี.ค. 2550 ได้รับการตั้งชื่อว่า“ขาวมงคล” และได้ลูกโคขาวลำพูนโคลนนิ่งตัวที่ 2 เกิดมาเมื่อวันที่ 1 ก.พ. 2555 ได้รับการตั้งชื่อว่า “เศวต” และได้น้อมเกล้าถวาย “เศวต” แด่สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ

7.11. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งแพะพันธุ์บอร์เพศผู้โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ ต้นแบบได้ลูกแพะโคลนนิ่งเกิดมารายแรกของประเทศไทย เมื่อวันที่ 27 พ.ค. 2550 1 ตัว และ วันที่ 4 ก.ค. 2550 1 ตัว

7.12. ประสบผลสำเร็จการโคลนนิ่งกระทิงเพศผู้ โดยใช้เซลล์ร่างกายส่วนใบหูเป็นเซลล์ ต้นแบบ ได้ลูกกระทิงโคลนนิ่งเกิดมารายที่ 2 ของโลก เมื่อวันที่ 4 มี.ค. 2551 จำนวน 1 ตัว ความสำเร็จครั้งนี้พิสูจน์ได้ว่าการโคลนนิ่งข้ามสปีชีส์สามารถใช้ในการอนุรักษ์สัตว์ป่าที่มีจำนวนน้อยตระกูลโค ซึ่งจะเป็นแนวทางในการทำในสัตว์ตระกูลอื่นๆต่อไป

7.13. ประสบผลสำเร็จในการพัฒนา “โคพันธุ์โคราชวากิว” ซึ่งเกิดจากการนำน้ำเชื้อโควากิวพันธุ์แท้ (Full blood) มาผสมกับโคเนื้อในประเทศไทย โดยได้เก็บข้อมูลระหว่างปี 2548-2550 พบว่า ณ ขณะนั้นยังไม่มีหน่วยงานใดผลิตโควากิวลูกผสมที่ให้เนื้อเกรดพรีเมี่ยมที่มีเนื้อนุ่มไขมันแทรกสูงเพราะคิดว่าเลี้ยงยากมีความเสี่ยงที่โคปรับตัวไม่ได้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (มทส.) โดย รศ.ดร.รังสรรค์ พาลพ่ายผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีชีวภาพในการปรับปรุงพันธุ์โค ที่สำเร็จการศึกษาจากประเทศญี่ปุ่น และผ่านการดูงานการเลี้ยงโควากิวในหลายประเทศ จึงได้ริเริ่มนำน้ำเชื้อโควากิวพันธุ์แท้ให้เกษตรกรนำไปใช้ผสมเทียมให้กับโคเนื้อเพื่อรับซื้อลูกโครุ่นแรก (F1) กลับมาขุนและปรับปรุงพันธุ์ต่อไปโดยเริ่มต้นตั้งแต่ปี 2551 ได้เชิญชวนเกษตรกรเข้าหุ้นซื้อพ่อโควากิวพันธุ์แท้ จากประเทศออสเตรเลีย อายุ 19 เดือน 1 ตัว ราคา 700,000 บาท นำเข้ามาในเดือนกันยายน 2551 ได้รับการตั้งชื่อว่า “โกโบริ” โดยได้นำไปเลี้ยงในฟาร์มวิจัยของ”ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีตัวอ่อนและเซลล์ต้นกำเนิด” ภายใน มทส. ซึ่งเป็นคอกปกติเหมือนการเลี้ยงโคเนื้อทั่วไป ไม่ต้องติดแอร์ไม่ต้องกางมุ้ง เพื่อผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งให้ผู้ถือหุ้นร้อยกว่าคนนำไปผสมเทียมให้กับแม่โค ตั้งแต่ปี 2551 มทส. ได้เริ่มจัดอบรมวิธีการปรับปรุงพันธุ์โคเนื้อโดยใช้น้ำเชื้อโควากิวผสมเทียมและวิธีการขุนให้ได้เนื้อเกรดพรีเมียมมีไขมันแทรกสูง ให้กับเกษตรกรจังหวัดนครราชสีมา สุรินทร์ บุรีรัมย์ ระยอง นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี ระหว่างนี้ทีมงานสัตวแพทย์ได้เก็บข้อมูลสุขภาพของโกโบริพบว่าไม่มีปัญหาทุกๆด้าน ทำให้มีความมั่นใจว่าโควากิวพันธุ์แท้เลี้ยงได้ดีไม่มีปัญหา ทำให้เกษตรกรรวมตัวกันซื้อตัวอ่อนโควากิวพันธุ์แท้แช่แข็งจากประเทศออสเตรเลีย มาให้ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีตัวอ่อนและเซลล์ต้นกำเนิด ทำการย้ายฝากให้แม่โคตัวรับมีลูกโคเกิดมาเป็นเพศเมีย 2 ตัว และเพศผู้ 7 ตัว ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งโควากิวพันธุ์แท้ไว้ใช้ผสมเทียมให้กับโคลูกผสมวากิวรุ่นต่อไป

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

วิสาหกิจชุมชนเลี้ยงโควากิวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทำให้โคพันธุ์โคราชวากิวในระยะเริ่มต้น จนมีเกษตรกรภาคตะวันออกเฉียงเหนือให้การยอมรับจนกลายเป็น “อีสานวากิว” ซึ่งสอดคล้องกับนโยบาย “อีสาน 4.0” ของรัฐบาลปัจจุบัน และก าลังขยายต่อเนื่องไปทั่วประเทศไทยกลายเป็น “ไทยวากิว” รัฐบาลโดยนายกรัฐมนตรีได้จัดให้การผลิตโควากิวเป็นหนึ่งในนโยบายหลักของรัฐบาลในการแถลงต่อรัฐสภาระหว่างวันที่ 25-26 กรกฎาคม 2562 ซึ่งจะทำให้สามารถลดการนำเข้าเนื้อโคเกรดพรีเมี่ยมและส่งออกไปขายต่างประเทศได้ภายใน 3 ปี

8. การจัดประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ

8.1. จากผลงานวิจัยการผลิตลูกโคโคลนนิ่งตัวแรกของอาเซียนและตัวที่ 6 ของโลก ทำให้ได้รับเชิญเป็น Steering Committee ของ Asian Reproductive Biotechnology Society และได้รับเกียรติให้เป็นประธานการจัดประชุมวิชาการของสมาคม 3 ครั้ง ได้แก่

8.1.1. การประชุม The 2nd Asian Reproductive Biotechnology Conference จัดระหว่างวันที่ 2-7 พฤศจิกายน 2548 ณ โรงแรมสยามซิตี กรุงเทพฯ มีผู้เข้าร่วมประชุม 230 คน

8.1.2. การประชุม The 11th Asian Reproductive Biotechnology Conference จัดระหว่างวันที่ 2-8 พฤศจิกายน 2557 ณ โรงแรมสุโกศล กรุงเทพฯ มีผู้เข้าร่วมประชุม 210 คน

8.1.3. การประชุม The 14th Asian Reproductive Biotechnology Congress จัดระหว่างวันที่ 19-23 สิงหาคม 2562 ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นครราชสีมา มีผู้เข้าร่วมประชุม 160 คน

8.2. เป็นประธานการจัดประชุมวิชาการ The 10th World Buffalo Congress และ The 7th Asian Buffalo Congress ณ โรงแรมฮิลตัล ภูเก็ต อาคาเดียร์ จ.ภูเก็ต ในปีค.ศ. 2013 มีผู้เข้าร่วมประชุมกว่า 500 คน

8.3. เป็นประธานจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ The 1st SUT Stem Cell Workshop เรื่อง “Embryonic Stem Cell and Application in Biomedical Science” ระหว่างวันที่ 23-29 กรกฎาคม 2550 ณ ห้องประชุม 1 อาคารวิชาการ และห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 ชั้น 2 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี มีผู้เข้าอบรม 70 คน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เป็นสถาบันการศึกษาแห่งแรกที่เปิดการอบรมเชิงปฏิบัติการ ทางด้านเซลล์ต้นกำเนิด เพื่อเปิดโอกาสให้ผู้สนใจทำวิจัยทางด้านนี้เข้าเรียนรู้เทคนิคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยด้านนี้ และเป็นการสร้างเครือข่ายผู้วิจัยด้านนี้ในประเทศไทย

8.4. เป็นประธานจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ The 2nd SUT Stem Cell Workshop เรื่อง “Recent Advance of Embryonic and Somatic Stem Cells in Biomedical Science” ระหว่างวันที่ 28 กรกฎาคมถึง 3 สิงหาคม 2551 ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ กรุงเทพฯ และห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 ชั้น 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมีผู้เข้าอบรม 60 คน

8.5. เป็นประธานจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ The 3rd SUT Stem Cell Workshop เรื่อง“Recent Advance of Embryonic and Somatic Stem Cells in Biomedical Science” ระหว่างวันที่ 27 มิถุนายน ถึง 3 กรกฎาคม

2552 ณ สุรสัมนาคาร และห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 ชั้น 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีมีผู้เข้าอบรม 60 คน

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

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

9. ผลงานตีพิมพ์เชิงวิชาการ:

9.1. การเขียนตำรา-หนังสือ

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

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

9.1.3. **รังสรรค์ พาลพ่าย** สรรเพชญ โสภณ มณีวรรณ กมลพัฒนะ กำธร มีบำรุง กิติยา ศรีศักดิ์วัฒนะ ประชุม อินทรโชติ ธวัชชัย สุวรรณกำจาย ประภากร วัฒโนดร พฤฒิ เกิดชูชื่น และ สมสวัสดิ์ ตันตระกูล. 2530. ผลสำเร็จการย้ายฝากตัวอ่อนโคนมลูกผสมในประเทศไทย. มณีวรรณ กมลพัฒนะ (บรรณาธิการ), *การปฏิสนธิในหลอดแก้วและการย้ายฝากตัวอ่อน* โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, หน้า 273-288.

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

9.1.5. **รังสรรค์ พาลพ่าย** 2553. เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน. เอกสารคำสอนวิชา 314 533 Stem Cell Technology. 238 หน้า.

9.1.6. **รังสรรค์ พาลพ่าย** 2560. การโคลนนิ่งโค โรงพิมพ์ หจก. เลิศศิลป์ สาส์ณ โฮลติ้ง, นครราชสีมา, 274 หน้า.

9.1.7. **Parnpai, R.**, Minami, N. and Yamada, M. 1998. Current status of research for the establishment of bovine embryonic stem (ES) cells. In: Miyamoto, H. and Manabe, N. (eds.), Reproductive Biology Update: Novel Tools for Assessment of Environmental Toxicity. Nakanishi Printing, Kyoto, pp. 383-388.

9.2. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติย้อนหลัง 5 ปี

2019

Wachira Panta, Sumeth Imsoonthornruksa, Ton Yoisungnern, Sanong Suksaweang, Mariena Ketudat-Cairns and **Rangsun Parnpai***. 2019. Enhanced hepatogenic differentiation of human Wharton's jelly–derived mesenchymal stem cells by using three-step protocol. ***Int. J. Mol. Sci.*** 20: 3016; doi:10.3390/ijms20123016.

2018

Wipassa, V. and **Parnpai, R.*** 2018. The effects of permeating cryoprotectant combination and IGF-1 supplementation for vitrification of in vitro matured bovine oocytes. ***J. Applied Anima. Sci.*** 11 (Supplement): 72-75.

Liang, Y. and **Parnpai, R.*** 2018. Effect of vitrification procedures on the subsequent development of in vitro matured swamp buffalo oocytes following in vitro fertilization. ***Anim. Sci. J.*** DOI: 10.1111/asj.13044

Licia Colli, Marco Milanesi, Elia Vajana, Daniela Iamartino, Lorenzo Bomba, Francesco Puglisi, Marcello Del Corvo, Ezequiel L. Nicolazzi, Sahar S. E. Ahmed, Jesus R. V. Herrera, Libertado

Cruz, Shujun Zhang, Aixin Liang, Guohua Hua,Liguo Yang, Xingjie Hao, Fuyuan Zuo, SongJia Lai , Shuilian Wang, Ruyu Liu, Yundeng Gong, Mahdi Mokhber, Yongjiang Mao, Feng Guan, Augustin Vlaic, Bogdan Vlaic, Luigi Ramunno, Gianfranco Cosenza, Ali Ahmad, Ihsan Soysal, Emel Ö. Ünal, Mariena Ketudat-Cairns, José F. Garcia, Yuri T. Utsunomiya, Pietro S. Baruselli, Maria E. J. Amaral, **Rangsun Parnpai**, Marcela G. Drummond, Peter Galbusera, James Burton, Eileen Hoal 31, Yulnawati Yusnizar, Cece Sumantr, Bianca Moioli, Alessio Valentini, Alessandra Stella, John L. Williams and Paolo Ajmone-Marsan. 2018. New Insights on Water Buffalo Genomic Diversity and Post-Domestication Migration Routes From Medium Density SNP Chip Data. ***Frontiers Genetics***. 9: 53: 1-17.

Juanpanich, T., Suttirojpattana, T, Takayama, M., Liang, Y., Dochi, O., **Parnpai, R.*** and and Imai, K.* 2018. Effects of gel-embedded embryos on developmental competence of separated bovine blastomeres. ***Livestock Sci.*** 207: 25-29.

2017

Ye, D., Heraud, P., **Parnpai, R.*** and Li, T. 2017. Reversal of experimental liver damage after transplantation of stem-derived cells detected by FTIR spectroscopy. ***Stem Cell Intl.*** 4585169

Suttirojpattana, T., Somfai, T.*, Matoba, S., Nagai, T., **Parnpai, R.** and Geshi, M. 2017. Effect of storage tube material and resveratrol during liquid storage of matured bovine oocytes on subsequent development. ***Acta Veterinaria Hungarica*** 65: 546–555.

Paul, A.K., Liang, Y., Srirattana, K., Nagai, T. and **Parnpai, R.*** 2017. Vitrification of bovine matured oocytes and blastocysts in a paper container. ***Anim. Sci. J.*** doi: 10.1111/asj.12892.

Juanpanich, T., Suttirojpattana, T, Takayama, M., Liang, Y., Dochi, O., **Parnpai, R.*** and and Imai, K.* 2017. Survival and developmental competence of bovine embryos at different developmental stages and separated blastomeres after vitrification in different solutions. ***Anim. Sci. J.*** doi:10.1111/asj.12890

Pitchayapipatkul, J., Somfai, T., Matoba, S., **Parnpai, R.**, Nagai, T., Geshi, M. and Vongpralub, T.* 2017. Microtubule stabilisers docetaxel and paclitaxel reduce spindle damage and maintain the developmental competence of in vitro-mature bovine oocytes during vitrification. ***Reprod Fertil Dev.*** doi: 10.1071/RD16193.

Tanthaisong P, Imsoonthornruksa S, Ngernsoungnern A, Ngernsoungnern P, Ketudat-Cairns M, **Parnpai R.***. 2017. Enhanced Chondrogenic Differentiation of Human Umbilical Cord Wharton's Jelly Derived Mesenchymal Stem Cells by GSK-3 Inhibitors. ***PLoS One.*** 12: e0168059.

Suttirojpattana, T., Somfai, T.*, Matoba, S., Nagai, T., **Parnpai, R**. and Geshi, M. 2017. Effect of medium additives during liquid storage on developmental competence of in vitro matured bovine oocytes. ***Anim. Sci. J.*** 88: 231–240.

2016

Kunkanjanawan, T., Carter, R.L., Prucha, M., Yang, J., **Parnpai, R.** and Chan, A.W.S.* 2016. miR196a ameliorates cytotoxicity and cellular phenotype in transgenic Huntington's disease monkey neural cells. ***PloS One*** 11: e0162788.

Suttirojpattana, T., Somfai, T.*, Matoba, S., Nagai, T., **Parnpai, R.*** and Geshi, M. 2016. Pretreatment of bovine sperm with dithiobutylamine (DTBA) significantly improves embryo development after ICSI. ***J. Reprod. Dev.*** 62: 577-585.

Parnpai, R.*, Liang, Y., Ketudat-Cairns, M., Somfai, T. and Nagai, T. 2016. Vitrification of buffalo oocytes and embryos. ***Theriogenology.*** 86: 214-220.

Ye, D., Li, T., Heraud, P. and Parnpai. R.* 2016. Effect of chromatin-remodeling agents in hepatic differentiation of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells in vitro and in vivo. ***Stem Cell Intl.*** 3038764.

Suttirojpattana, T., Somfai, T.*, Matoba, S., Nagai, T., **Parnpai, R.*** and Geshi, M. 2016. The effect of temperature during liquid storage of in vitro-matured bovine oocytes on subsequent embryo development. ***Theriogenology.*** 85: 509-518.

2015

Imsoonthornruksa, S., Pruksananonda, K., **Parnpai, R.**, Rungsiwiwut, R. and Ketudat-Cairns, M.* 2015. Expression and purification of recombinant human basic fibroblast growth factor fusion proteins and their uses in human stem cell culture. ***J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*** 25: 372-380.

Chasombat, J., Nagai, T., **Parnpai, R.** and Vongpralub, T.* 2015. Pretreatment of in vitro matured bovine oocytes with docetaxel before vitrification: Effects on cytoskeleton integrity and developmental ability after warming. ***Cryobiology.*** 71: 216-223.

Khamlor, T., Pongpiachan, P., **Parnpai, R.**, Punyawai, K., Sangsritavong. and Chokesajjawatee, N.* 2015. Bovine embryo sex determination by multiplex loop-mediated isothermal amplification. ***Theriogenology.*** 83: 891-896.

Punyawai, K., Anakkul, N., Srirattana, K., Aikawa, Y., Sangsritavong, S., Nagai, T., Imai K. and **Parnpai R.*** 2015. Comparison of Cryotop and micro volume air cooling methods for cryopreservation of bovine matured oocytes and blastocysts. ***J. Reprod. Dev.*** 61 : 431-437.

Yoisungnern, T., Choi, Y.J., Woong, H.J., Kang, M.H., Das, J., Gurunathan, S., Kwon D.N., Cho, S.G., Park, C., Kyung Chang, W., Chang, B.S., **Parnpai R.** and Kim, J.H.* 2015. Internalization of silver nanoparticles into mouse spermatozoa results in poor fertilization and compromised embryo development. ***Sci. Rep.*** doi: 10.1038/srep11170.

Yoisungnern, T., Das, J., Choi, Y.J., **Parnpai, R.** and Kim, J.H.* 2015. Effect of hexavalent chromium-treated sperm on in vitro fertilization and embryo development. ***Toxicol. Ind. Health.*** pii: 0748233715579805.

2014

Carter, R.L., Chen, Y., Kunkanjanawan, T., Xu, Y., Moran, S.P., Putkhao, K., Yang, J., Huang, A.H.C., **Parnpai, R.** and Chan, A.W.S.* 2014. Reversal of cellular phenotypes in neural cells derived from Huntington's disease monkey-induced pluripotent stem cells. ***Stem Cell Reports*** 3:1-9.

Chasombat, J., Nagai, T., **Parnpai, R.** and Vongpralub, T.* 2014. Ovarian follicular dynamics and hormones throughout the estrous cycle in Thai native heifer. ***Anim. Sci. J.*** 85: 15-24.

Parnpai, R.*, Liang, Y.Y., Paul, A.K., Ngernsoungnern, A., Ngernsoungnern, P. and Ketudat-Cairns, M. 2014. Cryopreservation of buffalo oocytes. ***Thai J. Vet. Med.*** 44 (Supplement 1): 119-123.

Paul, A.K., Liang, Y.Y., Nagai, T. and **Parnpai, R.*** 2014. Blastocysts hatchability following oocytes and blastocyst vitrification. ***Thai J. Vet. Med.*** 44 (Supplement 1): 237-240.

Paul, A.K., Liang, Y.Y., Nagai, T. and **Parnpai, R.*** 2014. In vitro development potentiality of expanded bovine blastocysts subsequent Cryotop vitrification. ***Thai J. Vet. Med.*** 44: 513-521.

Punyawai, K., Sangsritavong, S., Liang, Y.Y., Sripunya, N. and **Parnpai, R.*** 2014. Effect of thawing solutions on survival of bovine blastocyst using in-straw vitrification method. ***Thai J. Vet. Med.*** 44 (Supplement 1): 241-243.

Putkhao, K.*, Chan, A.W.S.*, Yuksel, A. and **Parnpai, R.*** 2013. Cryopreservation of transgenic Huntington's disease rhesus macaque sperm: A case report. ***Cloning and Transgenesis*** 2:1000116.

Sripunya, N., Liang, Y., Panyawai, K., Srirattana, K., Ngernsoungnern, A., Ngernsoungnern, P., Ketudat-Cairns, M. and **Parnpai, R.*** 2014. Cytochalasin B efficiency in the cryopreservation of immature bovine oocytes by Cryotop and solid surface vitrification methods. ***Cryobiology*** 69: 496-499.

Srirattana, K., Ketudat-Cairns, M., Nagai, T., Kaneda, M.* and **Parnpai, R.*** 2014. Effects of Trichostatin A on in vitro development and DNA methylation level of the satellite I region of swamp buffalo (Bubalus bubalis) cloned embryos. ***J. Reprod. Dev.*** 60: 336-341.

2013

Chasombat, J., Nagai, T., **Parnpai, R.** and Vongpralub, T.* 2013. Ovarian follicular dynamics, ovarian follicular growth, oocyte yield, in vitro embryo production and repeated oocyte pick up in Thai native heifers undergoing superstimulation. ***Asian-Australasian J. Anim.*** Sci. 26: 488-500.

Kaewmungkun, K., Srirattana, K., Panyawai, K., Sripunya, N., Liang, Y., Sangsritavong, S. and **Parnpai, R.*** 2013. Influence of growth factors on survival and development of swamp buffalo early antral follicle cultured in vitro. ***Buffalo Bulletin*** 32: (Special Issue 2): 617-621.

Liang, Y.Y., Somfai, T., Nagai, T. and **Parnpai, R.*** 2013. Vitrification of buffalo oocytes: Current status and perspectives. ***Buffalo Bulletin*** 32 (Special Issue 1): 196-203.

Phongnimitr, T. Liang, Y., Srirattana, K., Panyawai, K., Sripunya, N., Treetampinich, C. and **Parnpai, R.*** 2013. Effects of L-carnitine supplemented in maturation medium on the maturation rate of swamp buffalo oocytes. ***Buffalo Bulletin*** 32: (Special Issue 2): 613-616.

Phongnimitr, T., Liang, Y.Y., Srirattana, K., Panyawai, K., Sripunya, N., Treetampinich, C.* and **Parnpai, R.*** 2013. Effect of L-carnitine on maturation, cryo-tolerance and embryo developmental competence of bovine oocytes. ***Anim. Sci. J.*** 84: 719-725.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2012

Chasombat, J., Sakhong, D., Nagai, T., **Parnpai, R.** and Vongpralub, T*. 2012 Superstimulation of follicular growth in Thai native heifers by a single administration of follicle stimulating hormone dissolved in polyvinylpyrrolidone. ***J. Reprod. Dev.*** http://dx.doi.org/10.1262/jrd.2012-119

Imsoonthornruksa, S., Srirattana, K., Phewsoi, W., Tunwattana, W., **Parnpai, R*.** and KetudatCairns, M*. 2012. Segregation of donor cell mitochondrial DNA in gaur-bovine interspecies somatic cell nuclear transfer embryos, fetuses and an offspring. ***Mitochondrion*** 12: 506-513.

Imsoonthornruksa, S., Sangmalee, A., Srirattana, K., **Parnpai, R.***, Ketudat-Cairns, M*. 2012. Development of intergeneric and intrageneric somatic cell nuclear transfer (SCNT) cat embryos and the determination of telomere length in cloned offspring. ***Cell. Reprogram.*** 14: 79-87.

Liang, Y.Y., Srirattana, K., Phermthai, T., Somfai, T., Nagai, T. and **Parnpai, R*.** 2012. Effects of vitrification cryoprotectant treatment and cooling method on the viability and development of buffalo oocytes after intracytoplasmic sperm injection. ***Cryobiology*** 65: 151-156.

Liang, Y., Rakwongrit, D., Phermthai, T., Somfai, T., Nagai, T., and **Parnpai, R.*** 2012. Cryopreservation of immature buffalo oocytes: Effects of cytochalasin B pretreatment on the efficiency of cryotop and solid surface vitrification methods. ***Anim. Sci. J.*** doi:10.1111/j.1740-0929.2012.01013.x

Putkhao, K., Kocerha, J., Cho, I.K., Yang, J.J., **Parnpai, R.** and Chan, A.W.S*. 2012. Pathogenic cellular phenotypes are germline transmissible in a transgenic primate model of Huntington's Disease. ***Stem Cell Dev.*** 22: 1198-1205.

Srirattana, K., Sripunya, N., Sangmalee, A., Imsoonthornruksa, S., Liang, Y.Y., Ketudat-Cairns M.K. and **Parnpai, R*.** 2012. Developmental potential of vitrified goat oocytes following somatic cell nuclear transfer and parthenogenetic activation. ***Small Rum. Res.*** http://dx.doi.org/10.1016/j. smallrumres.2012.10.011

Srirattana, K., Imsoonthornruksa, S., Laowtammathron, C., Sangmalee, A., Tunwattana, W., Thongprapai, T., Chaimongkol, C., Ketudat-Cairns, M*. and **Parnpai, R*.** 2012. Full-term

development of gaur-bovine interspecies somatic cell nuclear transfer embryos: effect of trichostatin a treatment. ***Cell Reprogram.*** 14: 248-257.

Takeda, K*., Srirattana, K., Matsukawa, K., Akagi, S., Kaneda, M., Tasai, M., Nirasawa, K., Pinkert, C.A., **Parnpai, R.** and Nagai, T. 2012. Influence of intergeneric/interspecies mitochondrial injection; parthenogenetic development of bovine oocytes after injection of mitochondria derived from somatic cells. ***J. Reprod. Dev.*** 58: 323-329.

Ye, D.N., Tanthanuch, W., Thumanu, K., Sangmalee, A., **Parnpai, R***. and Heraud, P*. 2012. Discrimination of functional hepatocytes derived from mesenchymal stem cells using FTIR microspectroscopy. ***Analyst*** 135: 4774-4784. 2011

Imsoonthornruksa, S., Lorthongpanich, C., Sangmalee, A., Srirattana, K., Laowtammathron, C., Tunwattana, W., Somsa, W., Ketudat-Cairns, M., Nagai, T. and **Parnpai, R*.** 2011. The effects of manipulation medium and recipient cytoplast on in vitro development of intraspecies and intergeneric felid embryos. ***J. Reprod. Dev.*** 57: 385-392.

Imsoonthornruksa, S., Noisa, P., **Parnpai, R.** and Ketudat-Cairns, M*. 2011. A simple method for production and purification of soluble and biological activity recombinant humen leukemia inhibitory factor (hLIF) fusion protein in Escherichia coli. ***J. Biotechnol.*** 151: 295-302.

Kunkanjanawan, T., Noisa, P*. and **Parnpai, R*.** 2011. Modeling neurological disorders by human induced pluripotent stem cells. ***J. Biomed. Biotechnol.*** 350131.

Liang, Y., Phermthai, T., Nagai, T., Somfai, T. and **Parnpai, R*.** 2011. In vitro development of vitrified buffalo oocytes following parthenogenetic activation and intracytoplasmic sperm injection. ***Theriogenology*** 75: 1652-1660.

Liang Y.Y., Ye, D.N., Laowtammathron, C., Phermthai, T., Nagai, T., and **Parnpai, R*.** 2011. Effects of chemical activation treatment on development of swamp buffalo (Bubalus bubalis) oocytes matured in vitro and fertilized by intracytoplasmic sperm injection. ***Reprod. Domestic Anim.*** 46: e67-e73.

Lorthongpanich, C*, Chuti Laowtammathron, C. and **Parnpai, R***. 2011. From microsurgery to single blastomere culture: conventional and novel methods for ES cell establishment. ***Thai J. Vet. Med.*** 41: 11-22.

Noisa, P*. and **Parnpai, R.** 2011. Technical challenges in the derivation of human pluripotent cells. ***Stem Cells Int.*** 907961. 3

Parnpai, R., Srirattana, K., Imsoonthornruksa, S. and Ketudat-Cairns, M. 2011. Somatic cell cloning for livestock and endangered species. ***Thai J. Vet. Med. Suppl.*** 41: 77-85.

Rattanasuk, S., **Parnpai, R.** and Ketudat-Cairns, M*. 2011. Multiplex polymerase chain reaction used for bovine embryo sex determination. ***J. Reprod. Dev.*** 57: 539-542.

Srirattana, K., Matsukawa,K., Akagi, S., Tasai, M., Tagami, T., Nirasawa, K., Nagai, T., Kanai, Y., **Parnpai, R.** and Takeda, K*. 2011. Constant transmission of mitochondrial DNA in 20 intergeneric cloned embryos reconstructed from swamp buffalo fibroblasts and bovine ooplasm. ***Anim. Sci. J.*** 82: 236-243.

Thumanu, K., Tanthanuch, W., Ye, D., Sangmalee, A., Lorthongpanich, C., **Parnpai, R*.** and Heraud, P*. 2011. Spectroscopic signature of mouse embryonic stem cells derived hepatocytes using Synchrotron FTIR microspectroscopy. ***J. Biomed. Optics*** 16: 057005-1.

2010

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

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

Imsoonthornruksa, S., Lorthongpanich, C., Sangmalee, A., Srirattana, K., Laowtammathron, C., Tunwattana, W., Somsa, W., Ketudat-Cairns, M., and **Parnpai, R*.** 2010. Abnormalities in the transcription of reprogramming genes related to global epigenetic events of cloned endangered felid embryos. ***Reprod. Fertil. Dev.*** 22: 613-624.

Sripunya, N., Somfai, T*., Inaba, Y., Nagai, T., Imai, K. and **Parnpai, R.** 2010. A comparison of Cryotop and Solid Surface Vitrification methods for the cryopreservation of in vitro matured bovine oocytes. ***J. Reprod. Dev.*** 56: 176-181.

Srirattana, K., Lorthongpanich, C., Laowtammathron, C., Imsoonthornruksa S., Ketudat-Cairns, M., Phermthai, T., Nagai, T. and **Parnpai, R*.** 2010. Effect of donor cell types on developmental potential of cattle (Bos taurus) and swamp buffalo (Bubalus bubalis)

cloned embryos. ***J. Reprod. Dev.*** 56: 49-54.

10. ทรัพย์สินทางปัญญา:

10.1. การจดสิทธิบัติ

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

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

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

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

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

11. รางวัลที่ได้รับ

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

11.2. รางวัลนักวิจัยดีเด่น จากสมาคมเทคโนโลยีชีวภาพแห่งประเทศไทย ได้รับเชิญเป็นผู้ปาฐกถา อายิโน๊ะโมะโต๊ะ เรื่อง “Somatic cell cloning in bovine using ear fibroblast as donor cells” ในการประชุมประจำปีของสมาคมปี พ.ศ. 2547

11.3. รางวัลบุคลากรสายวิชาการที่มีผลงานดีเด่นด้านการวิจัย ประจำปี 2548 จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

11.4. รางวัลแทนคุณแผ่นดิน สาขาวิทยาศาสตร์ จากผลสำเร็จการทำโคลนนิ่งสัตว์ชนิดต่างๆ ประจำปี 2550 จากเครือเดอะเนชั่น

11.5. รางวัลผลงานวิจัยดี (อันดับ 1 สาขาสัตว์) ในการเสนอผลงานวิจัยเรื่อง “การอนุรักษ์โคพันธุ์ขาวลำพูนโดยการทำโคลนนิ่ง” ในการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 พ.ศ. 2551

11.6. ศิษย์เก่าดีเด่น คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ. 2555

11.7. รางวัลบุคลากรสายวิชาการที่มีผลงานดีเด่นด้านการบริการวิชาการ ประจำปี 2558 จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

11.8. ศิษย์เก่าดีเด่น มหาวิทยาลัยบูรพา พ.ศ. 2560

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รองศาสตราจารย์ มารินา เกตุทัต-คาร์นส์

1. ชื่อ: รองศาสตราจารย์ มารินา เกตุทัต-คาร์นส์

2. สาขาวิชา สถานที่ทำงาน: สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เลขที่ 111 ถ. มหาวิทยาลัย ต. สุรนารี
อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000
โทรศัพท์ (044) 224355 โทรสาร (044) 224150
e-mail: ketudat@sut.ac.th

วุฒิการศึกษา 1988 B.Sc. Biology (Plant Science and Technology) Minor in Chemistry Chiang Mai University, Thailand G.P.A. 3.24

1995 Ph.D. Biology (Plant Molecular Genetic) University of California San Diego, USA G.P.A. 4.00

3. ความเชี่ยวชาญที่โดดเด่น:

- Recombinant Protein Production, Protein Research
- Molecular Biology & Genetic Engineering (Plant, Animal & Mibrobes)
- Gene Expression in cloned animals and stem cells

4. ประสบการณ์ทำงานวิจัย หรือการบริหารงานโครงการร่วมกับ collaborators

4.1 ภาครัฐ: ทำงานวิจัยด้านสเต็มเซลล์ร่วมกับ ศูนย์ความเป็นเลิศทางงานวิจัยสเต็มเซลล์ คณะแพทยศาสตรศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล คณะแพทย์ศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย

4.2 ภาคเอกชน บริษัท: ทำงานวิจัยด้านการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนเพื่อใช้ในการวิจัยร่วมกับบริษัท เมดิชสเต็มเซลล์

4.3 มหาวิทยาลัย สถาบันอื่น ๆ: ทำงานวิจัยด้านสเต็มเซลล์ร่วมกับ คณะแพทย์ศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : โครงการการผลิตกรดซัคซินิคโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในกระบวนการหมักแบบกะ
ผู้ประสานงานชุดโครงการ การวิจัยโปรตีนแห่งมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
หัวหน้าโครงการวิจัย : มีชื่อโครงการวิจัย ดังต่อไปนี้

- พัฒนากระบวนการผลิตโกรทแฟคเตอร์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์และเวชสำอางค์

อยู่ระหว่างดำเนินการ ได้รับงบประมาณปี 2563

- โครงการพัฒนาขีดความสามารถทางเทคโนโลยีและวิจัยของภาคเอกชนในพื้นที่ (IRTC) ผลิตรีคอมบิแนนท์ อินเตอร์ลิวคิน บริษัท เมดีซสเต็มเซลล์ จำกัด ส่งมอบผลิตภัณฑ์แล้ว
- ผลิตรีคอมบิแนนท์เบสิกไฟโบรบลาสโกรท์แฟกเตอร์ บริษัท เมดีซสเต็มเซลล์ จำกัด ส่งมอบผลิตภัณฑ์แล้ว
- การผลิตไซโตไคน์ การทำให้บริสุทธิ์ และ การนำไปใช้ในงานวิจัยเซลล์ต้นกำเนิด ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2561
- การดัดแปลงพันธุกรรมของ Sacchromyces cerevisiae เพื่อให้สามารถผลิตเอธานอลจากแป้งมัน ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2561
- การผลิต Pichia pastoris ที่มีโอเมก้า 3 สูง ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2559
- การพัฒนาเทคนิคเพื่อตรวจเชื้อก่อโรคปนเปื้อนในเนื้อไก่สด ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2559
- การโคลนและศึกษาการทำงานของ Os1BGlu4 เบตากลูโคไซเดสจากข้าว ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2557
- การศึกษาความยาวของเทลโลเมียร์ในลูกแมวที่เกิดจากการโคลนนิ่ง ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2557
- การหาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ทางพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับความต้านทานโรคแคงเกอร์ในมะนาวสายพันธุ์พิจิตร (M33) ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2556
- โมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิ Y ของวัว ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2557
- การโคลนและผลิตโปรตีนไฟโคไซยานินจากไซยาโนแบคทีเรีย ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2555
- การพัฒนาเครื่องหมายการตรวจสอบย้อนกลับปลานิลจากมทส ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2553
- การค้นหาและการแสดงออกของกลุ่มยีน Glycosyl Hydrolases ในจีโนมของข้าวหอมมะลิ ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2554
- การโคลนและผลิตเอ็นไซม์เอนโทอโรไคเนสสายสั้น ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2551
- การผลิตรีคอมบิแนนท์ทรานสกลูตามิเสนจากปลานิล ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2550
- การผลิตรีคอมบิแนนท์เอนไซม์ Thermostable DNA polymerase จาก Pyrococcus furiosusในแบคทีเรีย Escherichia coli ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2550
- การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนในถังหมัก ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2549
- การแสดงออกและการผลิตเบต้ากลูโคสิเดส โดย Pichia pastoris ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2548
- การจ าแนกลักษณะทางพันธุกรรม สรีระวิทยา และพฤติกรรมของไก่พื้นเมืองไทย ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2547
- การหาแผนที่ทางพันธุกรรมของไผ่ตง ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2546

- การพัฒนาวิธีการตรวจหาชนิดของโครโมโซมเพศปลานิล ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2543
- การผลิตรีคอมบิแนนท์เอนไซม์ Taq DNA polymerase ส่งรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ 2541

และเป็นผู้ร่วมโครงการวิจัยอื่นๆอีกมาก

5. ผลงานเด่น นวัตกรรม และผลกระทบจากผลงานนั้น ๆ ที่เกิดขึ้นในระดับชุมชม ประเทศ หรือนานาชาติ (Success stories and the impacts): เขียนเล่าเรื่อง อธิบาย หรือมีภาพประกอบ

งานทางด้านการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีน เริ่มจากการผลิตโปรตีนจำพวกเอ็นไซม์ เพื่อศึกษาคุณสมบัติของเอ็นไซม์ต่างๆ และใช้งานเองในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ และ ชีวเคมี รวมทั้งเพื่อสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่

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

อีกทั้งบริษัท เมดิชสเต็มเซลล์ ได้เห็นความสำคัญและให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในการผลิต IL2 อย่างไรก็ตาม การนำไปใช้ในอุตสาหกรรมทางการแพทย์ ยังต้องมีการวิจัยและพัฒนากระบวนการผลิตโกรทแฟคเตอร์ตัวอื่นๆ ด้วยและต้องพัฒนาห้องปฏิบัติการให้เป็นระบบ GMP ด้วย

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

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

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

งานที่เกี่ยวข้องกับการผลิต รีคอมบิแนนท์โปรตีนในการวิจัยสเต็มเซลล์

Imsoonthornruksa, S., Pruksananonda, K., Parnpai, R., Rungsiwiwut, R., **Ketudat-Cairns, M.** (2015) Expression and purification of recombinant human basic fibroblast growth factor fusion proteins and their uses in human stem cell culture J Mol Microbiol Biotechnol. 25(6):372-380

Imsoonthornruksa, S., Noisa, P., Parnpai, R., **Ketudat-Cairns, M.** (2011) A simple method for production and purification of soluble and biologically active recombinant human leukemia inhibitory factor (hLIF) fusion protein in Escherichia coli, Journal of Biotechnology (151): 295-302

ผลงานตีพิมพ์เชิงวิชาการ: 5 ปีย้อนหลัง

Panta, W., Imsoonthornruksa, S., Yoisungnern, T., Suksaweang, S., **Ketudat-Cairns, M.**, Parnpai, R. (2019) Sodium butyrate along with epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor supplementation synergistically enhanced hepatogenic differentiation of human Wharton'sjelly–derived mesenchymal stem cells International Journal of Molecular Sciences (Accepted 17 June 2019)

Udomsil, N., Imsoonthornruksa, S., Gosalawit, C., **Ketudat-Cairns, M.** (2019) Nutritional Values and Functional Properties of House Cricket (Acheta domesticus) and Field Cricket (Gryllus bimaculatus) Food Science and Technology Research Sciences 25(4) (Accepted 26 April 2019) doi: 10.3390/ijms20123016 https://www.mdpi.com/1422-0067/20/12/3016/pdf

Kupradit, C., Innok, S., Woraratphoka, J., **Ketudat-Cairns, M.** (2019) Prevalence and characterization of pathogenic bacteria in bulk tank raw milk, Thailand WJST 16(7) Kupradit, C., & Ketudat-Cairns, M. (2018). Specific Detection of Five Bacterial Foodborne Pathogens by Oligonucleotide Macroarray. Food and Applied Bioscience Journal, 7(1), 1-17.
Retrieved from https://www.tci-thaijo.org/index.php/fabjournal/article/view/127943

Colli, L., Milanesi, M., Vajana, E., (...), Williams, J.L., Ajmone-Marsan, P. (2018) New insights on water buffalo genomic diversity and post-domestication migration routes from medium density SNP chip data Frontiers in Genetics 9, 53

Tanthaisong, P., Imsoonthornruksa, S., Ngernsoungnern, A., Ngernsoungnern, P., **Ketudat-Cairns, M.**, Parnpai, R. (2017) Enhanced chondrogenic differentiation of human umbilical cord wharton's jelly derived mesenchymal stem cells by GSK-3 Inhibitors PLoS ONE 12(1),0168059

Kupradit, C., Innok, S., Woraratphoka, J. **Ketudat-Cairns, M.** (2017) Novel multiplex PCR assay for rapid detection of five bacterial foodborne pathogens. Suranaree J. Sci. Technol. 24(1):41-50

Parnpai, R., Ling, Y-Y., **Ketudat-Cairns, M.**, Somfai, T., and Nagai, T. (2016) Vitrification of Buffalo Oocytes and Embryos Theriogenology. 86(1) 214-220

Dai, W., Gerdthai, T. Huang, Z., **Ketudat-Cairns, M.**, Tang, R. Wang, S. (2015) Genetic analysis for anthocyanin and chlorophyll contents in rapeseed (Brassica napus L.) Ciência Rural 46 (5) 790-795

Imsoonthornruksa, S., Pruksananonda, K., Parnpai, R., Rungsiwiwut, R., **Ketudat-Cairns, M.** (2015) Expression and purification of recombinant human basic fibroblast growth factor fusion proteins and their uses in human stem cell culture J Mol Microbiol Biotechnol. 25(6):372-380

7. ทรัพย์สินทางปัญญา:

กระบวนการแยกเพศอสุจิโคด้วยโมโนโคลนัลแอนติบอดี ที่มีความจำเพาะต่ออสุจิเพศผู้ของโค และการใช้อสุจิที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวในการปฏิสนธิในหลอดทดลอง

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

วันที่ยื่นคำขอ 27/07/55 เลขที่คำขอ 1201004011

วันที่ประกาศโฆษณา 12/01/58 เลขที่ประกาศโฆษณา 141110

ผลิตภัณฑ์โมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิเพศผู้ของโค และกระบวนการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่ออสุจิเพศผู้ของโคดังกล่าว

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

วันที่ยื่นคำขอ 27/07/55 เลขที่คำขอ 1201004012

วันที่ประกาศโฆษณา 21/07/56 เลขที่ประกาศโฆษณา 124729

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ดร. สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา

1. ชื่อ: ดร. สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา

2. สาขาวิชา สถานที่ทำงาน: สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

e-mail: tonikuya@hotmail.com

วุฒิการศึกษา

- 2003 B.Sc. Biotechnology Department of Biotechnology, Faculty of Engineering and Industrial Technology, Silpakorn University
- 2008 M.Sc. Biotechnology School of Biotechnology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology
- 2016 Ph.D. Biotechnology School of Biotechnology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology

3. ความเชี่ยวชาญที่โดดเด่น:

- Recombinant protein production
- Stem cell biology
- Cell reprogramming
- Gene editing
- Reproductive technology in animal production

4. ประสบการณ์ทำงานวิจัย หรือการบริหารงานโครงการร่วมกับ collaborators

4.1 ภาครัฐ:

4.1.1 ร่วมวิจัยกับ ดร. บัญชา มะโฮง งานบริหารการผลิตชีววัตถุ ฝ่ายชีววัตถุ องค์การเภสัชกรรม เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนให้ได้มาตราฐาน

4.2 ภาคเอกชน บริษัท: ไม่มี

4.3 มหาวิทยาลัย สถาบันอื่น ๆ:

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

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

4.3.3 ร่วมวิจัยกับ รศ. ดร. นพ. ภาคภูมิ เขียวละม้าย สาขาเซลล์ชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ เพื่อต่อยอดการนำรีคอมบิแนนท์โปรตีนไปใช้จริงในระดับห้องปฏิบัติการ

4.3.4 ร่วมวิจัยกับ รศ. ดร. เทพปัญญา เจริญรัตน์ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ เพื่อพัฒนาระบบและขยายกำลังการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนในระดับอุตสาหกรรม

4.3.5 ร่วมวิจัยกับ Prof. Dr. Rudolf Jaenisch, Whitehead Institute, Massachusetts Institute of Technology, MA, USA เพื่อศึกษากลไกการควบคุมสถานะ Native State in Human Pluripotent Stem Cells

4.3.6 ร่วมวิจัยกับ Assist. Prof. Dr. Thorold Theunissen, Developmental Biology, Washington University School of Medicine in St. Louis, MO, USA เพื่อศึกษา transcription factors ที่มีบทบาทต่อสถานะ pluripotency ในเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์

4.3.7 ร่วมวิจัยกับ Prof. Dr. Il-Keun Kong, Department of Animal Science, Gyeongsang National University, Republic of Korea เพื่อทดสอบโมโนโคลนอลแอนติบอดีในการแยกเพศน้ำเชื้อโค

5. ผลงานเด่น นวัตกรรม และผลกระทบจากผลงานนั้น ๆ ที่เกิดขึ้นในระดับชุมชน ประเทศ หรือนานาชาติ (Success stories and the impacts): เขียนเล่าเรื่อง อธิบาย หรือมีภาพประกอบ

รีคอมบิแนนท์โปรตีนสามารถผลิตได้จากเซลล์เจ้าบ้านที่เป็นแบคทีเรีย พืช แมลง และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ที่ถูกถ่ายยีนโปรตีนที่ต้องการผลิต ซึ่งนักวิจัยมีความเชี่ยวชาญในการใช้เซลล์แบคทีเรียเช่น E. coli และ P. Pastoris ในการผลิตโกรทแฟคเตอร์ของมนุษย์ เพื่อใช้การศึกษาคุณสมบัติทางชีววิทยาที่มีผลต่อเซลล์ไลน์ชนิดต่างๆ ประกอบกับปัจจุบันเซลล์ต้นกำเนิด (Stem cells) ถูกใช้ในการศึกษาทางการแพทย์อย่างหลากหลาย รวมถึงการศึกษาทางชีววิทยาของโรค การคิดค้นยา การบำบัดด้วยยีน และการบำบัดด้วยการแทนที่เซลล์ อย่างไรก็ตามกลไกรวมถึงการถนอมรักษาและการขยายออกของเซลล์ระยะ undifferentiated state ในหลอดทดลอง (*in vitro*) และการเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์ชนิดต่างๆ (differentiation) ในหลอดทดลอง และในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) ยังคงต้องการมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้รู้กลไกควบคุมที่ชัดเจน ก่อนที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคต่อไป สภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญของเซลล์ คือหนึ่งในตัวแปรสำคัญสำหรับงานวิจัยเซลล์ต้นกำเนิด ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดต้องการโกรทแฟคเตอร์ และไซโตไคน์เป็นตัวช่วยกระตุ้น เพื่อ ให้เกิดการเพิ่มจำนวน และชักนำให้เป็นเซลล์ชนิดต่างๆ โดยโกรทแฟคเตอร์ และไคโตไคน์ซึ่งมีราคาแพง นอกจากนี้โกรทแฟคเตอร์และไซโตไคน์เป็นโปรตีน

หลักที่มีค่าใช้จ่ายสูงในการใช้เลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ เพื่อเป็นการเชื่อมโยงและบูรณาการงานวิจัยการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีนกับงานวิจัยเซลล์ต้นกำเนิด นักวิจัยได้ประสบการณ์ในการผลิตรีคอมบิแนนท์โกรทแฟคเตอร์มาแล้ว (Imsoonthornruksa et al., 2011) นอกจากนี้ยังได้รับความร่วมมือการวิจัยจากห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิดในหน่วยงานต่างๆ เพื่อทดสอบและนำไปใช้ในการเติมลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ ซึ่งได้ผลการทดลองเป็นที่น่าพอใจสามารถใช้ทดแทนโกรทแฟคเตอร์ที่ซื้อจากต่างประเทศได้ ซึ่งส่งผลให้สามารถลดต้นทุนในการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดได้ 30-50% และปัจจุบันยังไม่มีหน่วยงานใดของภาครัฐ และภาคเอกชนที่สามารถผลิตโกรทแฟคเตอร์เพื่อใช้ในงานด้านเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์ โดยผลิตภัณฑ์ดังกล่างจะถูกนำเข้าจากต่างประเทศ 100% ซึ่งเป็นเงินจำนวนมาก ดังนั้นการผลิตรีคอมบิแนนท์โกรทแฟคเตอร์จากองค์ความรู้ที่มี จึงเป็นโอกาสและมีความเป็นไปได้ที่จะนำเทคโนโลยีและองค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยไปเพิ่มขนาดการผลิต จนสามารถนำไปสู่การจำหน่ายภายในประเทศ เพื่อลดการนำเข้าสินค้าจากต่างประเทศ

6. ผลงานตีพิมพ์เชิงวิชาการ:

Theunissen, T. W., Huang, X., **Imsoonthornruksa, S.**, Miguel Fidalgo, M., Carlos Sánchez-Priego, C., Ding, J., Li, D., Lungjangwa, T., Mitalipova, M., Wang, H., Rangarajan, S., Ketudat-Cairns, M. Shen, X., Jaenisch, R., and Wang, J. (2019). An interactome of master transcription factors in human embryonic stem cells. **Nature** (Under revised).

Udomsil, N., **Imsoonthornruksa, S.**, Gosalawit, C., and Ketudat-Cairns (2019). Nutritional values and functional properties of house cricket (Acheta domesticus) and field cricket (Gryllus bimaculatus). **Food Sci. Technol. Res.** 25(4): 597-605.

Panta, W., **Imsoonthornruksa, S.**, Yoisungnern, T., Suksaweang, S., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R (2019). Enhanced hepatogenic differentiation of human Wharton's jellyderived mesenchymal stem cells by using three-step protocol. **Int. J. Mol. Sci.** 20(12): 3016

Tanthaisong, P., **Imsoonthornruksa, S.**, Ngernsoungnern, A., Ngernsoungnern, P., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. (2016). Enhanced chondrogenic differentiation of human umbilical cord Wharton's jelly derived mesenchymal stem cells by GSK-3 inhibitors. **PLoS ONE** 12(1): e0168059. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168059.

Imsoonthornruksa, S., Pruksananonda, K., Parnpai, R., Rungsiwiwut, R., and KetudatCairns, M. (2015). Expression and purification of recombinant human basic fibroblast growth factor fusion proteins and their uses in human stem cell culture. **J. Mol. Microbiol. Biotechnol.** 25: 372-380.

De Los Angeles, A., Ferrari, F., Fujiwara, Y., Mathieu, R., Lee, S., Lee. S., Tu, H. C., Ross, S., Chou, S., Nguyen, M., Wu, Z., Theunissen, T. W., Powell. B. E., **Imsoonthornruksa, S.**, Chen, J., Borkent, M., Krupalnik, V., Lujan, E., Wernig. M., Hanna, J. H., Hochedlinger, K., Pei, D., Jaenisch, R., Deng, H., Orkin, S. H., Park, P. J., and Daley, G. Q. (2015). Failure to replicate the STAP cell phenomenon. **Nature** 525: E6-9

Theunissen, T. W., Powell, B. E., Wang, H., Mitalipova, M., Faddah, D. A., Reddy, J., Fan, Z. P., Maetze, D., Ganz, K., Shi, L., Lungjangwa, T., **Imsoonthornruksa, S.**, Stelzer, Y., Rangarajan, S., D'Alessio, A., Zhang, J., Gao, Q., Dawlaty, M. M., Young, R. A., Gray, N. S., and Jaenisch, R. (2014). Systematic Identification of Culture Conditions for Induction and Maintenance of Naive Human Pluripotency. **Cell Stem Cell** 15: 471-487.

Srirattana, K., Sripunya, N., Sangmalee, A., **Imsoonthornruksa, S.**, Liang, Y., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. (2013). Developmental potential of vitrified goat oocytes following somatic cell nuclear transfer and parthenogenetic activation. **Small Ruminant Res.** 112: 141-146.

Imsoonthornruksa, S., Srirattana, K., Phewsoi, W., Tunwattana, W., Parnpai, R., and Ketudat Cairns, M. (2012). Segregation of donor cell mitochondrial DNA in gaur-bovine interspecies somatic cell nuclear transfer embryos, fetuses and an offspring. **Mitochondrion** 12: 506-513.

Srirattana, K., **Imsoonthornruksa, S.**, Laowtammathron, C., Sangmalee, A., Tunwattana, W., Thongprapai, T., Chaimongkol, C., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. (2012). Full-term development of gaur-bovine interspecies somatic cell nuclear transfer embryos: effect of trichostatin A treatment. **Cell Reprogram.** 14: 248-257.

Imsoonthornruksa, S., Sangmalee, A., Srirattana, K., Parnpai, R. and Ketudat-Cairns, M. (2012). Development of intergeneric and intrageneric somatic cell nuclear transfer (SCNT) catembryos and the determination of telomere length in cloned offspring. **Cell Reprogram** 14: 79-87.

Imsoonthornruksa, S., Lorthongpanich, C., Sangmalee, A., Srirattana, K., Laowtammathron, C., Tunwattana, W., Somsa, W., Ketudat-Cairns, M., Nagai, T., and Parnpai, R. (2011). The effects of manipulation medium, culture system and recipient cytoplast on in vitro development of intraspecies and intergeneric felid embryos. **J. Reprod. Dev.** 57: 385-392.

Imsoonthornruksa, S., Noisa, P., Parnpai, R., and Ketudat-Cairns, M. (2011). A simple method for production and purification of soluble and biologically active recombinant human leukemia inhibitory factor (hLIF) fusion protein in Escherichia coli. **J. Biotechnol.** 151: 295-302.

Parnpai, R., Srirattana, K., **Imsoonthornruksa, S.**, and Ketudat-Cairns, M., (2011). Somatic cell cloning for livestock and endangered species. **Thai J. Vet. Med. Suppl.** 41: 77-85.

Imsoonthornruksa, S., Lorthongpanich, C., Sangmalee, A., Srirattana, K., Laowtammathron, C., Tunwattana, W., Somsa, W., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. (2010). Abnormalities in the transcription of reprogramming genes related to global epigenetic events of cloned endangered felid embryos. **Reprod. Fertil. Dev.** 22: 613-624.

Srirattana K., Lorthongpanich, C., Laowtammathron, C., **Imsoonthornruksa, S.**, Ketudat-Cairns, M., Phermthai, T., Nagai, T. and Parnpai, R. (2010). Effect of donor cell types on developmental potential of cattle (Bos taurus) and swamp buffalo (Bubalus bubalis) cloned embryos. **J. Reprod. Dev.** 56: 49-54.

Srirattana K., Laowtammathron, C., Devahudi R., **Imsoonthornruksa, S.**, Sangmalee, A., Tunwattana, W., Lorthongpanich, C., Sripunya, N., Keawmungkun, K., Phewsoi, W., Ketudat-Cairns M., and Parnpai, R. (2009). Effect of Trichostatin A on developmental potential of inter-species cloned gaur (Bos gaurus) embryos. **Reprod. Fert. Dev.** 21: 126.

Imsoonthornruksa, S., Lorthongpanich, C., Srirattana, K., Sripunya, N., Laowtammathron, C., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. (2006). Effect of manipulation medium on the development of reconstructed domestic cat embryos. **Reprod. Fert. Dev.** 19: 141.

Lorthongpanich, C., Srirattana, K., **Imsoonthornruksa, S.**, Sripunya, N., Laowtammathron, C., Kumpong, O., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. (2006). Expression and distribution of Oct-4 in interspecies-cloned long-tailed monkey (Macaca fascicularis) embryos. **Reprod. Fert. Dev.** 19: 149.

7. ทรัพย์สินทางปัญญา: ไม่มี

สพ.ญ.รังสิรัตน์ วงศ์สรรค์

1. ชื่อ: สพ.ญ.รังสิรัตน์ วงศ์สรรค์

2. สาขาวิชา สถานที่ทำงาน: ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

หมายเลขติดต่อ 044223143, 0879657540

อีเมล์ w_rangsirat@sut.ac.th

3. ความเชี่ยวชาญที่โดดเด่น:

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

- พ.ศ.2559 สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น

- พ.ศ.2560 เข้าร่วมอบรมโครงการอบรมผู้ขอรับใบอนุญาตใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์

- พ.ศ.2560 เข้าร่วมอบรมโครงการ สัตวแพทย์ประจำ ณ สถานที่ดำเนินการ เพื่อเสริมประสบการณ์ทางด้านวิทยาศาสตร์สัตว์ทดลอง

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

- พ.ศ.2561 เข้าร่วมอบรมหลักสูตร สัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มเลี้ยงสัตว์ ประเภทโคนมและแพะนม

- พ.ศ.2561 เข้าร่วมอบรมเชิงปฏิบัติการ หลักสูตรสถิติและการวางแผนการวิจัยที่ใช้สัตว์

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

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี