1.บทนำ

ในปัจจุบันการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเซลล์ต้นกำเนิดกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมากเนื่องจากจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้รักษาผู้ป่วยโดยวิธีเซลล์บำบัด (cell therapy) เช่น ผลิตเซลล์เบต้า (beta cell) เพื่อใช้รักษาคนเป็นโรคเบาหวาน ผลิตเซลล์หัวใจเพื่อรักษาคนเป็นโรคหัวใจ ผลิตเซลล์ตับอ่อนเพื่อรักษาโรคเบาหวาน โดยการสร้าง Insulin Producing cell ผลิตเซลล์ประสาทในสมอง (Dopaminergic neuron) ที่สามารถสร้างสารโดพามีน (Dopamine) เพื่อรักษาคนเป็นโรคพาร์กินสัน (Parkinson) เป็นต้น เซลล์ต้นกำเนิดแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ตามแหล่งกำเนิด คือ เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน (Embryonic stem cell) และเซลล์ต้นกำเนิดร่างกาย (Somatic stem cell) ในประเทศไทยการศึกษาวิจัยการผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนมนุษย์ยังไม่สามารถทำได้ เนื่องจากไม่มีกฎระเบียบรองรับการทำวิจัย และเป็นเรื่องที่โต้แย้งทางสังคมทางด้านจริยธรรมการใช้ตัวอ่อนมนุษย์ มาผลิตเซลล์ต้นกำเนิด นอกจากนี้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนยังมีความสามารถที่จะเจริญเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์เนื้องอก ซึ่งทำให้เกิดความเสี่ยงหากนำไปรักษาผู้ป่วย สำหรับในประเทศไทย นักวิจัยจึงควรทำการศึกษาทางด้านเซลล์ต้นกำเนิดร่างกาย ซึ่งไม่มีปัญหาเรื่องจริยธรรม และมีนักวิจัยเพียงไม่กี่กลุ่มที่ทำการศึกษา การผลิตเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำมนุษย์ด้านรกเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการทำวิจัย เนื่องจากถุงน้ำคร่ำเป็นเนื้อเยื่อที่ต้องทิ้งไปหลัง คลอดธรรมชาติหรือผ่าตัดทำคลอด และควรที่จะศึกษาการนำเซลล์ต้นกำเนิดที่ได้ไปกระตุ้นให้เป็นเซลล์ตับ เพื่อเป็นแนวทางการรักษาผู้ป่วยด้วยการนำเซลล์ตับไปทำเซลล์บำบัดให้กับผู้ป่วยด้วยโรคตับ

2.การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

รกของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ชั้น ได้แก่ เนื้อเยื่อชั้นแอมเนียน (amnion) เนื้อเยื่อชั้นคอเรียน (chorion) และ เนื้อเยื่อชั้นเดซิดัว (deciduas) โดยแต่ละชั้นมีพัฒนามาจากต่างแหล่งกัน โดยพบว่าส่วนของเดซิดัวนั้นมีการพัฒนามาจากเนื้อเยื่อของแม่ แต่อีกสองชั้นที่เหลือ ได้แก่ ชั้นแอมเนียนและคอเรียนนั้น มีการพัฒนามาจากส่วนของตัวอ่อนเอง ซึ่งชั้นของคอเรียนมีพัฒนามาจาก trophoblast layer ขณะที่แอมเนียน มีพัฒนามาจาก epiblast โดยเริ่มต้นการพัฒนาตั้งแต่ภายหลังการปฏิสนธิเป็นเวลา 8 วัน ดังนั้น epiblast จึงมีการพัฒนามาเป็นแอมเนียน พร้อมๆกันกับการพัฒนาไปเป็นเนื้อเยื่อทั้ง 3 ชั้น อันได้แก่ ectoderm mesoderm และ endoderm ของตัวอ่อน เซลล์ที่จะมีคุณสมบัติเป็นเซลล์ชนิด pluripotent เช่น embryonal carcinoma ได้นั้น จะต้องเป็นเซลล์ที่เกิดขึ้นก่อนที่จะมีกระบวนการ gastrulation ขึ้น (Diwan และ Stevens, 1976) ซึ่งความรู้ดังกล่าวยืนยันความสำคัญของกระบวนการ gastrulation ต่อรูปแบบของการพัฒนาหน้าที่และความจำเพาะของเซลล์ เนื่องจากกระบวนการ gastrulation ของตัวอ่อนเกิดขึ้นภายหลังการปฏิสนธิเป็นเวลาประมาณ 3 สัปดาห์ ภายหลังจากการที่เซลล์อิพิทีเลียมของแอมเนียนพัฒนาขึ้นจาก epiblast ประมาณ 2 สัปดาห์ ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้ที่เซลล์ของแอมเนียน จะยังคงมีคุณสมบัติ pluripotency ของเซลล์ epiblast ระยะแรกเอาไว้

แอมเนียน หรือเรามักเรียกว่าถุงน้ำคร่ำ มีลักษณะเป็นถุงเนื้อเยื่อบางๆ ภายในบรรจุของเหลวซึ่งทำหน้าที่ปกป้อง และรองรับแรงกระแทกให้แก่ตัวอ่อนภายในครรภ์ขณะที่ตัวอ่อนกำลังมีการพัฒนา และในขณะเดียวกัน

ก็ป้องกันการยึดติดกันระหว่างตัวอ่อน และเนื้อเยื่อของมดลูกด้วย เซลล์อิพิทีเลียมของถุงน้ำคร่ำมีคุณสมบัติเฉพาะประการหนึ่ง เช่นเดียวกันกับเซลล์ที่ยังเจริญไม่เต็มที่ (immature cell) และเซลล์ต้นกำเนิด (stem cell) ได้แก่ การแสดงออกของ MHC class I antigen ที่ต่ำมาก (Akle และคณะ, 1981; Sakuragawa และคณะ, 1995) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมเซลล์อิพิทีเลียมของถุงน้ำคร่ำ สามารถพัฒนาไปเป็นเซลล์ประสาทที่เจริญเต็มที่ (mature neural cell) ซึ่งสามารถสร้าง และปล่อยสารสื่อประสาท (neurotransmitter) ชนิด acetylcholine, norepinephrine และ dopamine ได้ (Elwan และ Sakuragawa, 1997 ; Kakishita และคณะ, 2000) ซึ่งจากการค้นพบดังกล่าว ทำให้สามารถสร้างสมมติฐานได้ว่า เซลล์จากส่วนของรกที่พัฒนามาจากตัวอ่อน ยังมีศักยภาพในการคงคุณลักษณะ multipotency เอาไว้ได้เป็นระยะเวลานานภายหลังจากที่ได้รับการพัฒนามาจาก epiblast แล้ว รายงานความสำเร็จต่อมาจากการแยกเซลล์ต้นกำเนิด ซึ่งมีคุณสมบัติ pluripotency และ multipotency ได้ จากรก สายสะดือ และน้ำคร่ำเป็นการช่วยยืนยันสมมติฐานดังกล่าวได้ (Romanov และคณะ, 2003 ; Kogler และคณะ, 2004 ; Fukuchi และคณะ, 2004 ; Takahashi และคณะ, 2004) โดยสามารถได้ pluripotent stem cell จากสายสะดือ (Kogler และคณะ, 2004) ในขณะที่ multipotent mesenchymal stem cell ได้จากเนื้อเยื่อของรกหลายชนิด (Romanov และคณะ, 2004) และน้ำคร่ำ (Tsai และคณะ , 2004)

จากรายงานดังกล่าวข้างต้นจึงเชื่อว่าเซลล์ของรกส่วนที่พัฒนามาจากตัวอ่อน อาจจะเป็นแหล่งสำคัญของเซลล์ตั้งต้น(progenitor) หรือเซลล์ต้นกำเนิด (stem cell) ดังนั้นจึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษาในส่วนของเซลล์อิพิทีเลียมของถุงน้ำคร่ำ ที่มีคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งศักยภาพในการพัฒนาไปเป็นเซลล์ชนิดต่างๆที่ต้องการ รวมไปถึงศึกษาวิธีที่ใช้ในการกระตุ้นให้เซลล์พัฒนาไปสู่เซลล์จำเพาะนั้นๆ โดยจุดมุ่งหมายหลักอยู่ที่เซลล์ตับ (hepatocyte) ซึ่งหากสำเร็จ จะมีบทบาทสำคัญในการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ของประเทศไทยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งพยาธิสภาพที่เกิดกับตับยังเป็นปัญหาสำคัญที่พบ การศึกษาเพื่อหาวิธีการเพาะเลี้ยง และกระตุ้นให้เซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำไปสู่เซลล์เป้าหมายที่มีประสิทธิภาพ จะเป็นการใช้ประโยชน์จากถุงน้ำคร่ำ ซึ่งโดยปกติจะถูกทิ้งไปหลังจากมารดาคลอดบุตรแล้วให้เกิดประโยชน์ ในด้านการปลูกถ่ายเซลล์ และวงการแพทย์ต่อไปได้

3.ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

3.1. การแยกเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำมนุษย์

ทำการเก็บถุงน้ำคร่ำมนุษย์จากห้องผ่าตัดโรงพยาบาลขอนแก่น จ.ขอนแก่น โดยผู้เป็นเจ้าของถุงน้ำคร่ำเป็นผู้ลงนามยินยอมก่อนทำการเก็บ โดยแยกถุงน้ำคร่ำจากรกที่ได้มาจากห้องคลอดที่ผ่าตัดทำคลอดเท่านั้น นำถุงน้ำคร่ำไว้ในน้ำยา phosphate buffer saline ที่ไม่มี Ca^{+} และ Mg^{+} [PBS(-)] โดยนำส่งถึงห้องปฏิบัติการภายในระยะเวลาไม่เกิน 4 ชั่วโมงภายหลังการคลอด ด้วยการเก็บใส่ภาชนะในระบบปลอดเชื้อและแช่ในน้ำแข็ง เซลล์อิพิทีเลี่ยมจะถูกแยกออกจากถุงน้ำคร่ำได้โดยการย่อยแบบเป็นลำดับขั้นด้วยเอนไซม์ Trypsin (Sigma) ในขั้นแรกเมื่อได้รับถุงน้ำคร่ำมาจากห้องคลอดจะทำการลอกเมือก เศษเนื้อเยื่อ และเลือดที่ปนเปื้อนอยู่ออกไป แล้วนำไปล้างทำความสะอาดด้วยน้ำยา PBS(-) ก่อนเป็นจำนวน 3 ครั้ง ทำการตัดย่อยถุงน้ำคร่ำให้เป็นชิ้นเล็กๆ

ขนาดประมาณ 5x5 มิลลิเมตร และใส่ในน้ำยา PBS (-) ที่มีส่วนผสมของ 0.03% hyaluronidase (Sigma, U.S.A.) และ 0.025% deoxyribonuclease I (Sigma, U.S.A.) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นชิ้นของถุงน้ำคร่ำที่ได้รับการย่อยในขั้นแรกจะถูกนำมาทำการย่อยต่อด้วย 0.125 % trypsin/EDTA ในน้ำยา PBS(-) โดยจะทำการย่อยใน flask พร้อมกับการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดจะทำการดูดเปลี่ยนน้ำยาเดิมออกทิ้งเนื่องจากในการย่อยด้วย Trypsin ในครั้งแรกนี้ องค์ประกอบส่วนใหญ่ที่ได้จะเป็นเม็ดเลือดแดงเป็นหลัก เนื้อเยื่อของถุงน้ำคร่ำจะถูกทำการย่อยอีกครั้ง ด้วย 0.05% trypsin ในน้ำยา PBS(-) ก่อนที่จะทำการย่อยพร้อมการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วประมาณ 400 ถึง 600 รอบต่อนาที ที่อุณภูมิ 37 องศาเซลเซียส ต่อเป็นเวลา 30 นาที โดยจะเทเก็บน้ำใสส่วนบนใส่ flask ใหม่ทุกๆ 5-10 นาที โดยแช่ flask ที่มีน้ำส่วนใสในน้ำแข็ง เมื่อครบเวลาที่กำหนดจะนำน้ำส่วนใสที่ได้มาทำการกรองผ่าน cell strainer (BD, U.S.A.) เส้นผ่าศูนย์กลาง 70 ไมครอน เพื่อแยกเอาเซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำที่ย่อยได้ออกจากชิ้นเนื้อ สารละลายที่ได้จากการกรองจะถูกนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงนำมาทำการดูดสารละลายส่วนใสออก ก่อนทำการละลายส่วนที่ตกตะกอนซ้ำด้วยน้ำยา alpha modified Eagle's medium (αMEM, Invitrogen, U.S.A.) + 10% fetal bovine serum (FBS, Invitrogen, U.S.A.) + 10 ng/ml epidermal growth factor (EGF, Sigma, U.S.A.) + 1% antibiotic solution (Penicillin + Streptomycin) ทำซ้ำขั้นตอนของการย่อยเพื่อแยกเซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำอีกหนึ่งครั้งเพื่อแยกเก็บเซลล์ส่วนที่ยังเหลือค้างอยู่

นำเซลล์ที่ได้ไปเลี้ยงในจานเลี้ยงเซลล์เส้นผ่าศูนย์กลาง 35 มม (Nunc, Denmark) ในความเข้มข้น 50,000 เซลล์ต่อจานเลี้ยงเซลล์ ในน้ำยา αMEM + 10% FBS + 10 ng/ml epidermal growth factor (EGF) + 1% antibiotic solution ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้บรรยากาศที่มี 5% CO_2 in air ทำการเปลี่ยนน้ำยาทุกๆ 3 วัน จนกระทั่งเซลล์เจริญเติบโตได้ 90% ของพื้นผิวจานเลี้ยงเซลล์ จะทำการเปลี่ยนภาชนะเลี้ยงเซลล์ (passage) โดยการเก็บเกี่ยวเซลล์ด้วย 0.25% trypsin/EDTA ในน้ำยา PBS(-) จากนั้นนำเซลล์ที่ได้ไปเลี้ยงในขวดเลี้ยงเซลล์ขนาด 25 ตารางเซนติเมตร (Nunc, Denmark) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้บรรยากาศที่มี 5% CO_2 in air ทำการ เปลี่ยนน้ำยาทุกๆ 3 วัน จนกระทั่งเซลล์เจริญเติบโตได้ 90% ของพื้นผิวจานเลี้ยงเซลล์ จะทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ แล้วเลี้ยงต่อ ทำการเลี้ยงเซลล์จนถึง passage ที่ 3 จึงแช่แข็งเซลล์ในน้ำยา αMEM + 30% FBS + 10% DMSO (Sigma, U.S.A.) แล้วเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลว

3.2.การตรวจสอบคุณสมบัติของการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดด้วยวิธี Immunocytochemistry analysis

เซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำที่ได้รับการเพาะเลี้ยงจนเกาะยึดกับพื้นจานเลี้ยงเซลล์ และมีการเรียงตัวแบบ monolayer จะถูกนำมาตรวจสอบหาคุณสมบัติของการเป็นเซลล์ต้นกำเนิด ด้วยการตรวจหา cell surface antigen ที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิด โดยใช้ specific antibody ต่อ OCT-4, SOX-2, SSEA-3, SSEA-4, TRA1-60, และ TRA1-81 (Miki และคณะ, 2005) ทำโดยนำเซลล์ที่เพาะเลี้ยงมาล้างและบ่มเซลล์เป็นเวลา 30 นาที ด้วย 4% Phosphate-buffered paraformaldehyde หลังจากนั้น เซลล์จะได้รับการเติม 0.2% Triton X-100 ใน PBS

เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ต่อด้วยการเติม 10% non immune goat serum ใน PBS เพื่อทำการกำจัดไม่ให้เกิด non specific binding ขึ้น เซลล์ที่ได้จากขั้นตอนนี้จะนำมาบ่มไว้กับ anti-human monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อ cell surface marker ใน PBS ที่มี 2% BSA เป็นเวลา 1 คืน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เซลล์ที่ได้จะได้รับการบ่มร่วมกันกับ secondary antibody ที่เหมาะสม ใน PBS ที่มี 2% BSA เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากที่ทำการล้างด้วย PBS แล้ว เซลล์จะถูกนำไปทำการย้อมทับด้วย DAPI ก่อนนำเซลล์ที่ผ่านการย้อมไปส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์ เซลล์ที่มีคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิด จะพบการแสดงออกของ cell surface marker ดังกล่าวข้างต้นเป็นลักษณะที่สำคัญ

3.3. การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำมนุษย์เจริญเป็นเซลล์ตับ

นำเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำที่ passage ที่ 4 มาใช้ โดยทำการเลี้ยงเซลล์ใน 4-well dish ให้มีความหนาแน่น1-1.3 x 10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร เริ่มด้วยการนำเซลล์มาทำการเลี้ยงในน้ำยา Iscove's Modified Dulbecco's Medium (IMDM) + 20 ng/ml EGF + 10 ng/ml basic fibroblast growth factor (bFGF) ที่ปราศจากซีรั่มเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นจึงเข้าสู่ขั้นตอนของการเหนี่ยวนำซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรก ได้แก่ ขั้นตอนเริ่มเหนี่ยวนำ จะทำการเลี้ยงเซลล์ในน้ำยา IMDM + 20 ng/ml hepatocyte growth factor (HGF) + 10 ng/ml bFGF และ 0.61 g/l nicotinamide เป็นเวลา 7 วัน ก่อนเข้าสู่ขั้นตอนที่ 2 ซึ่งเป็น ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงให้เซลล์ที่ได้รับการเหนี่ยวนำแล้วพัฒนาไปสู่ระยะสมบูรณ์ โดยทำการเลี้ยงเซลล์ ในน้ำยา IMDM + 20 ng/ml oncostatin M (OSM) + 1 µmol/l dexamethasone และ 50 mg/ml ITS premix ต่อเป็นระยะเวลา 14 วัน ดังรูปที่ 1

	Pre-induction step	Induction step	Maturation step
Culture medium	IMDM , 20 ng/ml EGF, 10 ng/ml bFGF	IMDM, 20 ng/ml HGF, 10 ng/ml bFGF, 0.61 g/l nicotinamide	IMDM, 20 ng/ml OSM, 1 µmol/l Dex, 50 mg/ml ITS
PCR	*AFP, ALB, TAT, CYP2B6*	*AFP, ALB, TAT, CYP2B6*	*AFP, ALB, TAT, CYP2B6*
Immunocytochemistry (ICC)	AFP, ALB, C/EBPA, CK18	AFP, ALB, C/EBPA, CK18	AFP, ALB, C/EBPA, CK18

รูปที่ 1 แผนการทดลองการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำเป็นเซลล์ตับ

ทำการเปลี่ยนน้ำยาเลี้ยงเซลล์ทุก 3 วัน โดยน้ำยาที่ใช้จะทำการเติมปัจจัยในการเหนี่ยวนำใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง ตรวจดูรูปร่างของเซลล์เพื่อทราบถึงความเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่ได้รับการกระตุ้นไปเป็นเซลล์ที่มีลักษณะจำเพาะของเซลล์ตับ โดยในส่วนนี้จะเก็บรักษาตัวอย่างของน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ทำการเปลี่ยนออกทุกครั้งไว้ที่อุณหภูมิ – 20 ° C เพื่อใช้ในการตรวจสอบระดับของ albumin ด้วยวิธี ELISA ต่อไป

3.4. การตรวจคุณลักษณะของเซลล์ตับที่ได้จากการกระตุ้นเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำ

3.4.1. RT-PCR

เนื่องจากเกณฑ์ที่ใช้ในการตัดสินถึงความสำเร็จของการเหนี่ยวนำการกระตุ้นเซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำไปเป็นเซลล์ตับภายในหลอดทดลองนั้น ได้แก่ เซลล์ดังกล่าวที่ได้จะต้องมีการแสดงออกของยีนสำคัญที่เกี่ยวข้องต่อการพัฒนาของเซลล์ตับ เมื่ออยู่ในร่างกายปกติ จึงต้องทำการศึกษาการแสดงออกของยีนที่จะใช้เป็นตัววัดที่จำเพาะต่อเซลล์ตับ ด้วยวิธี RT-PCR ได้แก่ albumin (ALB) ,alpha-fetoprotein (AFP), tyrosine aminotransferase (TAT) และ Cytrochrome P2B6 (CYP2B6)

3.4.2. การตรวจโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ตับ ด้วย Immunocytochemistry analysis

เพื่อตรวจดูการแสดงออกของโปรตีนทั้งในระดับ intracellular และ intercellular โดยอาศัยเทคนิค immunostaining เพื่อตรวจหา marker ที่จำเพาะต่อเซลล์ตับได้แก่ ALB, AFP, cytokeratin 18 (CK18) และ CCAAT/enhancer binding protein alpha (C/EBPA) วิธีสำหรับตรวจได้แก่ นำเซลล์ที่เพาะเลี้ยงมาล้างด้วย 4% Phosphate-buffered paraformaldehyde หลังจากนั้น เซลล์จะได้รับการเติม 0.2% Triton X-100 ใน PBS เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ต่อด้วยการเติม 10% non immune goat serum ใน PBS เพื่อทำการกำจัดไม่ให้เกิด non specific binding ขึ้น เซลล์ที่ได้จากขั้นตอนนี้จะนำมาบ่มไว้กับ primary antibody ที่เหมาะสม ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสข้ามคืน หลังจากนั้นเซลล์ที่ได้จะได้รับการบ่มร่วมกันกับ secondary antibody ที่เหมาะสมใน PBS ที่มี 2% BSA เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากที่ทำการล้างด้วย PBS แล้วเซลล์จะถูกนำไปทำการย้อมทับด้วย DAPI แล้วทำการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์

3.4.3. การตรวจ albumin ด้วยวิธี ELISA

ELISA จะได้รับการทำโดยใช้ ELISA plate ขนาด 96 หลุม และ Human Albumin ELISA Quantitation Kit (Fluka 09753, Switzerland) โดยใช้ o-Phenylenediamine เป็น substrate โดยทำการตรวจวัดที่ค่า absorbance 490 nm โดยการใช้ microplate reader

4. ผลการวิจัย

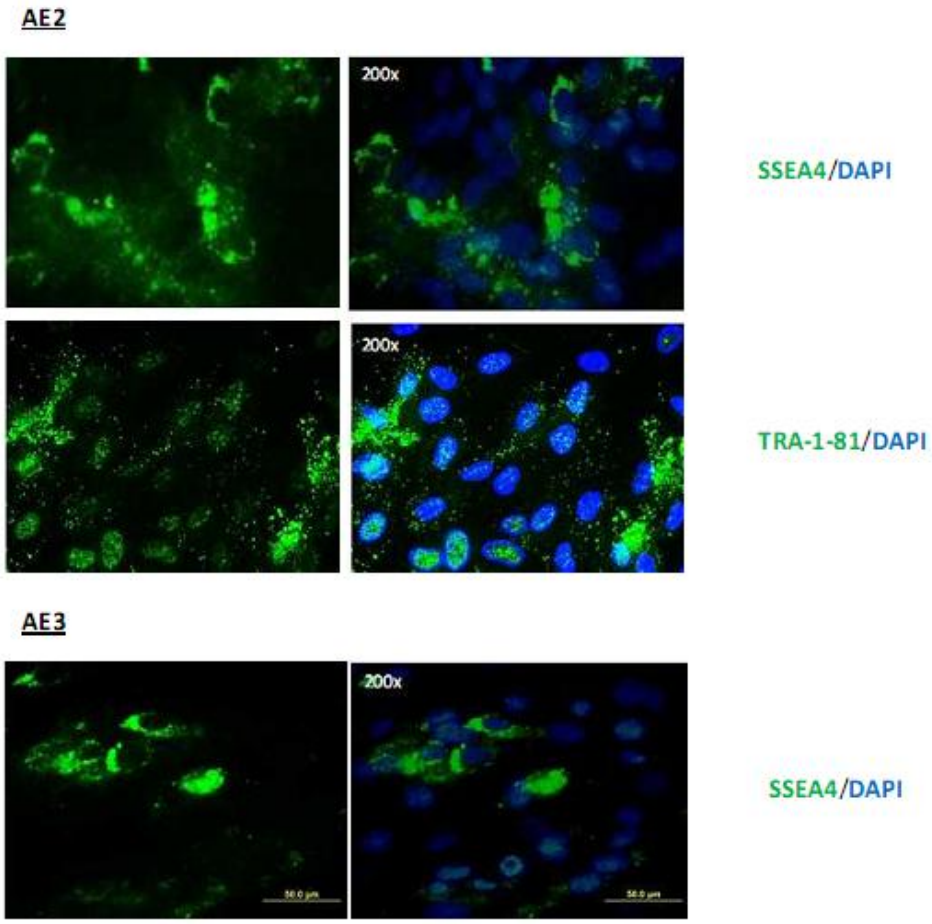
1.เซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำมนุษย์แสดงคุณสมบัติบางประการคล้ายคลึงกับเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน

ได้ทำการเก็บถุงน้ำคร่ำ 8 ถุงจากโรงพยาบาลขอนแก่นทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เยื่อบุจากผนังถุงน้ำคร่ำได้ทั้งหมด 7 สายพันธุ์ (AE2-AE8) ได้นำเซลล์เยื่อบุที่แยกได้จากผนังถุงน้ำคร่ำมนุษย์ 7 สายพันธุ์มาทำการตรวจสอบคุณสมบัติของการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดด้วยวิธี immunocytochemistry [เนื่องจากสายพันธุ์ AE1 มีการเจริญเติบโต (proliferation rate) ที่ไม่ดี จึงพิจารณาตัดออกจากการทดลอง] จากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าเซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำจำนวนทั้งหมด 7 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ AE2, AE3 (รูปที่ 2), AE4 (รูปที่ 3), AE5, AE6, AE7(รูปที่ 4) และ AE8 (รูปที่ 5) มีการแสดงออกของโปรตีนที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนมนุษย์ที่อยู่ในนิวเคลียส อาทิเช่น OCT-4 และ SOX-2 และโปรตีนบนผิวเซลล์ อาทิเช่น SSEA-3, SSEA-4, TRA-1-60 และ TRA-1-81 ในระดับที่แตกต่างกัน ถึงแม้ว่าเซลล์ที่แยกได้จากถุงน้ำคร่ำชั้นแอมเนียนจะเป็นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงมาจากเซลล์ epiblast แล้ว อย่างไรก็ตามเซลล์เหล่านี้อาจยังหลงเหลือคุณสมบัติ pluripotent ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ปรากฏอยู่ในเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน เซลล์ที่แยกได้จากถุงน้ำคร่ำนี้มีการแสดงออกของคุณสมบัติในความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดที่ไม่ครบถ้วนอย่างไรก็ตามการที่เซลล์เหล่านี้มีการแสดงออกถึงผลบวกต่อบางคุณสมบัติ แสดงว่าเซลล์ยังอาจยังหลงเหลือคุณสมบัติ pluripotent ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ปรากฏอยู่ในเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนอยู่ ร่วมกันกับการที่เซลล์มีการแสดงออกต่อ albumin ซึ่งเป็นโปรตีนที่ถูกสร้างโดยเซลล์ตับ (กล่าวถึงภายหลัง) ดังนั้นจึงมีแนวโน้มว่า เซลล์ชนิดนี้อาจมีศักยภาพในการถูกเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์เป้าหมาย (เซลล์ตับ) ต่อไปได้

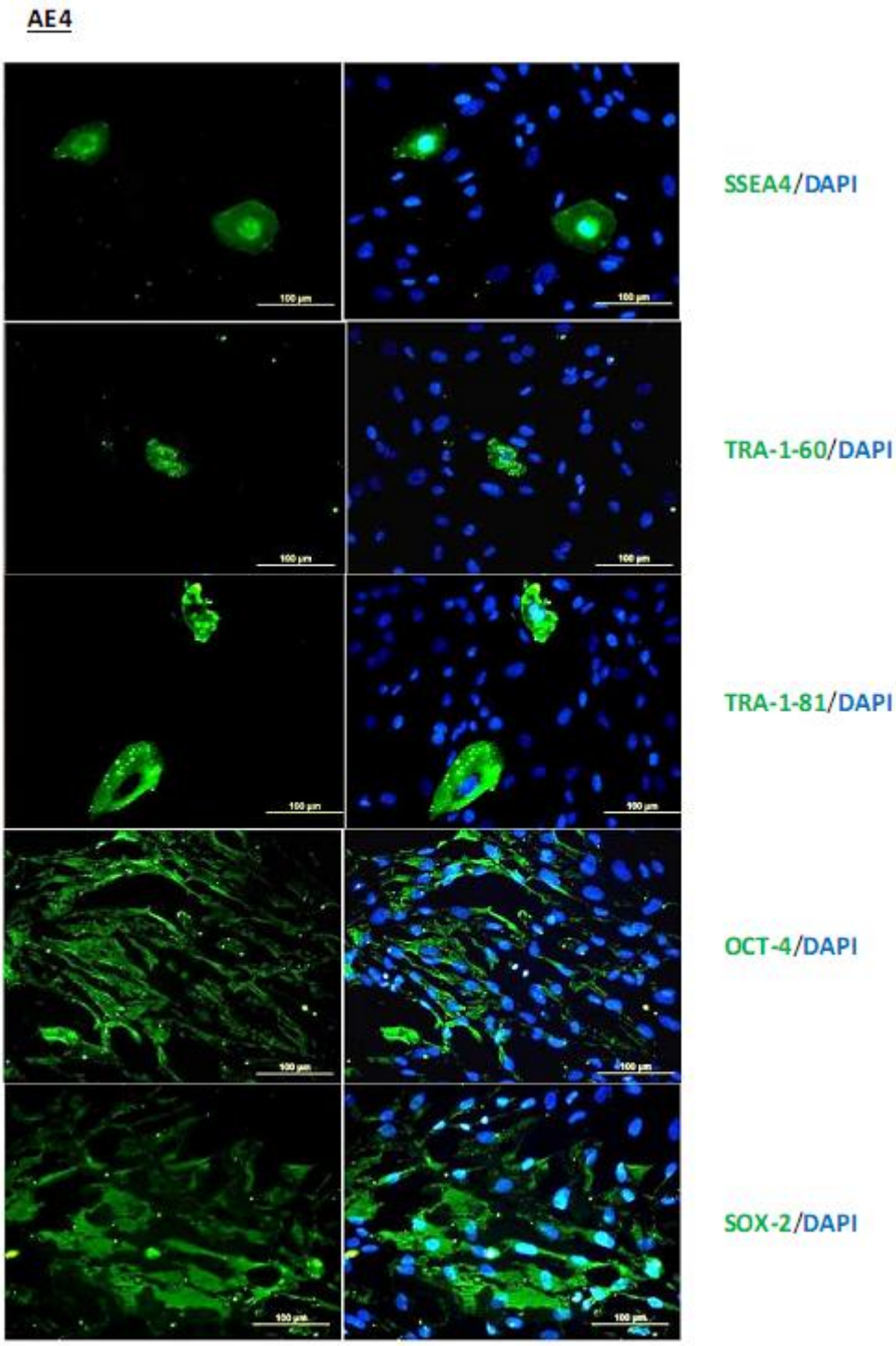
ดังนั้น ในกรณีนี้สายพันธุ์ AE4 ซึ่งมีการแสดงออกของโปรตีนดังกล่าวมากชนิดที่สุด จึงเป็นสายพันธุ์ที่มีแนวโน้มในการถูกเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์เป้าหมายชนิดต่างๆ อาทิเช่น เซลล์กระดูก เซลล์ไขมัน เซลล์ประสาท รวมทั้งเซลล์ตับได้มากที่สุด

ตารางที่ 1 การแสดงออกของเซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำต่อโปรตีนที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนมนุษย์ด้วยวิธี immunocytochemistry

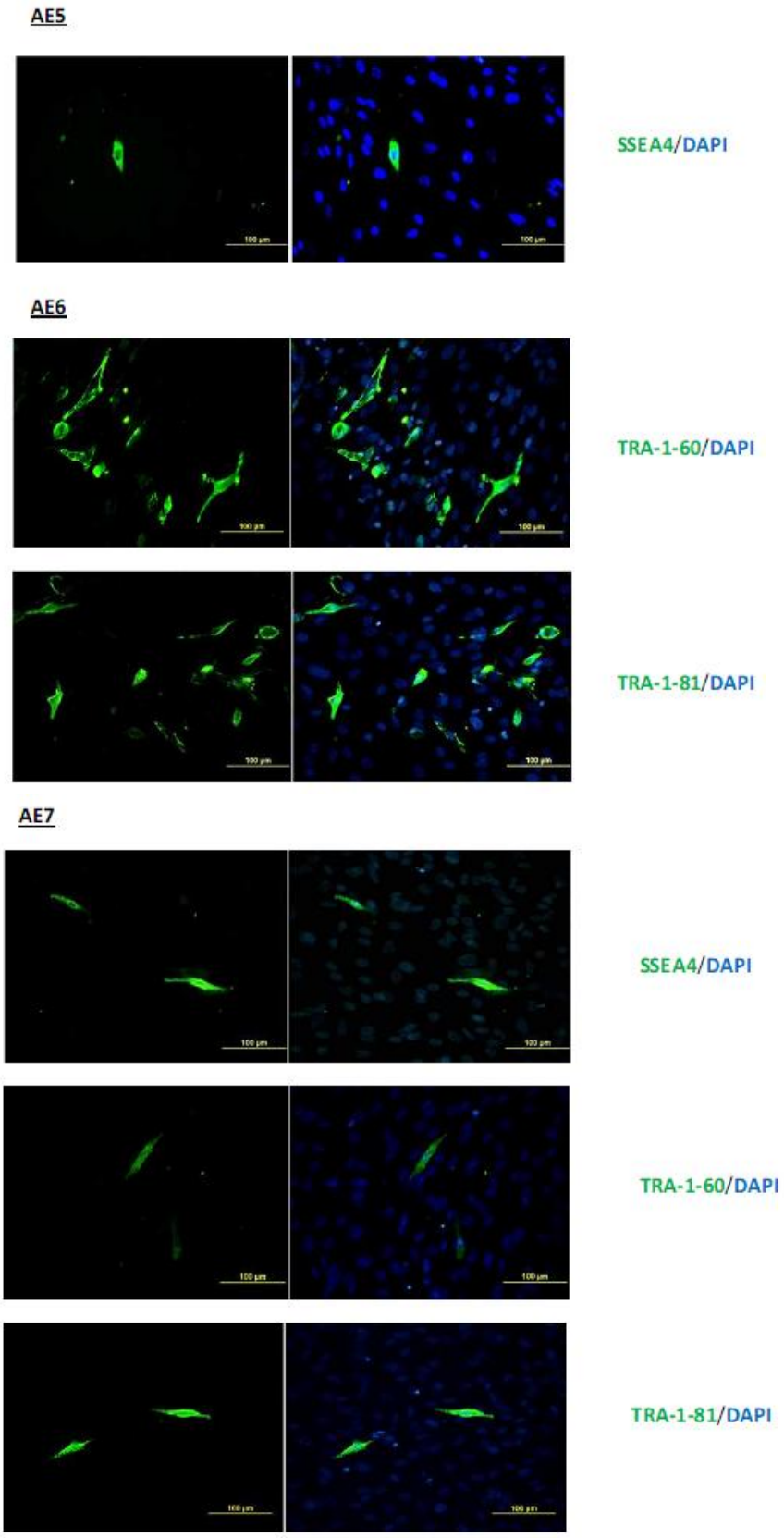
Cell lines	OCT-4	SOX-2	SSEA-3	SSEA-4	TRA 1-60	TRA 1-81
AE2	-	-	-	+	-	+
AE3	-	-	-	+	-	-
AE4	+	+	-	+	+	+
AE5	-	-	-	+	-	-
AE6	-	-	-	-	+	+
AE7	-	-	-	+	+	+
AE8	-	-	-	+	-	+



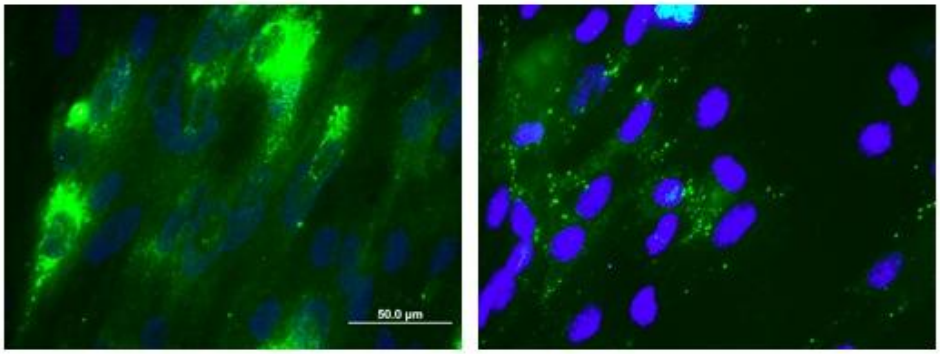
รูปที่ 2 การตรวจคุณสมบัติเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำสายพันธุ์ AE2 และ AE3 ด้วยวิธี immunocytochemistry กำลังขยาย 200 x



รูปที่ 3 การตรวจคุณสมบัติเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำสายพันธุ์ AE4 ด้วยวิธี immunocytochemistry กำลังขยาย 200 x



รูปที่ 4 การตรวจคุณสมบัติเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำสายพันธุ์ AE5, AE6 และ AE7 ด้วยวิธี immunocytochemistry กำลังขยาย 200 x



รูปที่ 5 การตรวจคุณสมบัติเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำสายพันธุ์ AE8 ด้วยวิธี immunocytochemistry กำลังขยาย 200 x

2.การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำมนุษย์เป็นเซลล์ที่มีคุณลักษณะคล้ายเซลล์ตับ

ในการทำการศึกษาครั้งแรก ได้ทำการเลือกเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำ 2 สายพันธุ์ ที่มีการแสดงออกของคุณสมบัติต่อเซลล์ต้นกำเนิด และมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี ได้แก่ AE2 และ AE3 มาทำการศึกษา โดยทำการเหนี่ยวนำให้มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ตับ ด้วยน้ำยาที่มีสารเคมีที่จำเป็นต่อการพัฒนาเป็นเซลล์ตับ ได้แก่ bFGF, HGF, dexamethasone, OSM, insulin-transferin-selenium และ nicotinamide แล้วทำการตรวจโปรตีน จำเพาะต่อการพัฒนาเป็นเซลล์ตับได้แก่ การแสดงออกของ alpha-fetoprotein (AFP) และ albumin (ALB) (รูปที่ 6 และ 7) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ถูกสร้างขึ้นอย่างมากในตับที่อยู่ในระยะระหว่างการพัฒนา (immature) และระยะพัฒนาอย่างสมบูรณ์ (mature) ตามลำดับ รวมไปถึง cytokeratin 18 (CK18) พบว่าทั้ง 2 สายพันธุ์มีแนวโน้ม ของการแสดงออกโปรตีนที่จำเพาะต่อการพัฒนาเป็นเซลล์ตับคล้ายคลึงกัน (ตารางที่ 2 และ 3) กล่าวคือ ระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 7 ของการกระตุ้นด้วยน้ำยาเหนี่ยวนำ (induction medium) ซึ่งประกอบด้วย bFGF, HGF และ nicotinamide เซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำจะถูกกระตุ้นและเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ตับระยะเริ่มแรก โดยจะมีการสังเคราะห์โปรตีน AFP ออกมามากที่สุดในระยะนี้ ซึ่งสอดคล้องกับการพัฒนาของเซลล์ตับที่เกิดขึ้นจริงระหว่างการเป็นทารกในครรภ์มารดาจนกระทั่งถึงคลอด โดยโปรตีนชนิดนี้จะพบมากระหว่างการพัฒนาสร้างเป็นเซลล์ตับของตัวอ่อนระยะฟีตัสและในเซลล์มะเร็งของตับ (hepatocarcinoma) บางชนิด

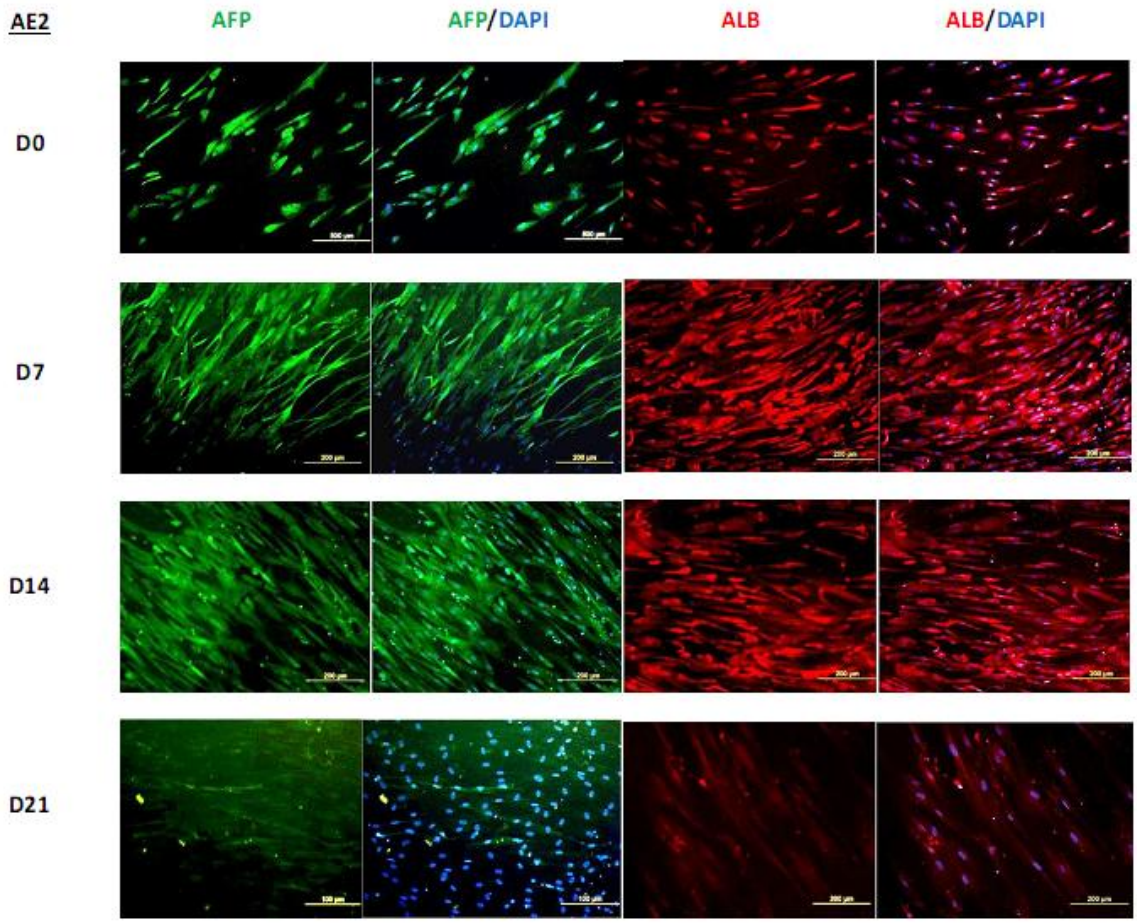
ภายหลังทำการเปลี่ยนน้ำยาจากน้ำยาเหนี่ยวนำเป็นน้ำยาเลี้ยงเพื่อพัฒนาให้เป็นเซลล์ตับที่สมบูรณ์ (maturation medium) ในวันที่ 7 ถึง 21 ของการเลี้ยง พบโปรตีน AFP จะเริ่มมีการแสดงออกลดลงระหว่างที่เซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำมีการพัฒนาคล้ายคลึงกับเซลล์ตับมากขึ้น โดยส่วนโปรตีนที่จำเพาะต่อเซลล์ตับอีกชนิดหนึ่ง คือ albumin ซึ่งโดยทั่วไปจะถูกสังเคราะห์โดยเซลล์ตับตั้งแต่ระยะเริ่มแรกจนถึงระยะที่มีการพัฒนาอย่างสมบูรณ์ แต่จะมีการสร้างมากขึ้นในระยะหลัง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองดังตารางที่ 2 และ 3

ตารางที่ 2 การแสดงออกต่อโปรตีนที่จำเพาะต่อเซลล์ตับของเซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำ สายพันธุ์ AE2 ด้วยวิธี immunocytochemistry

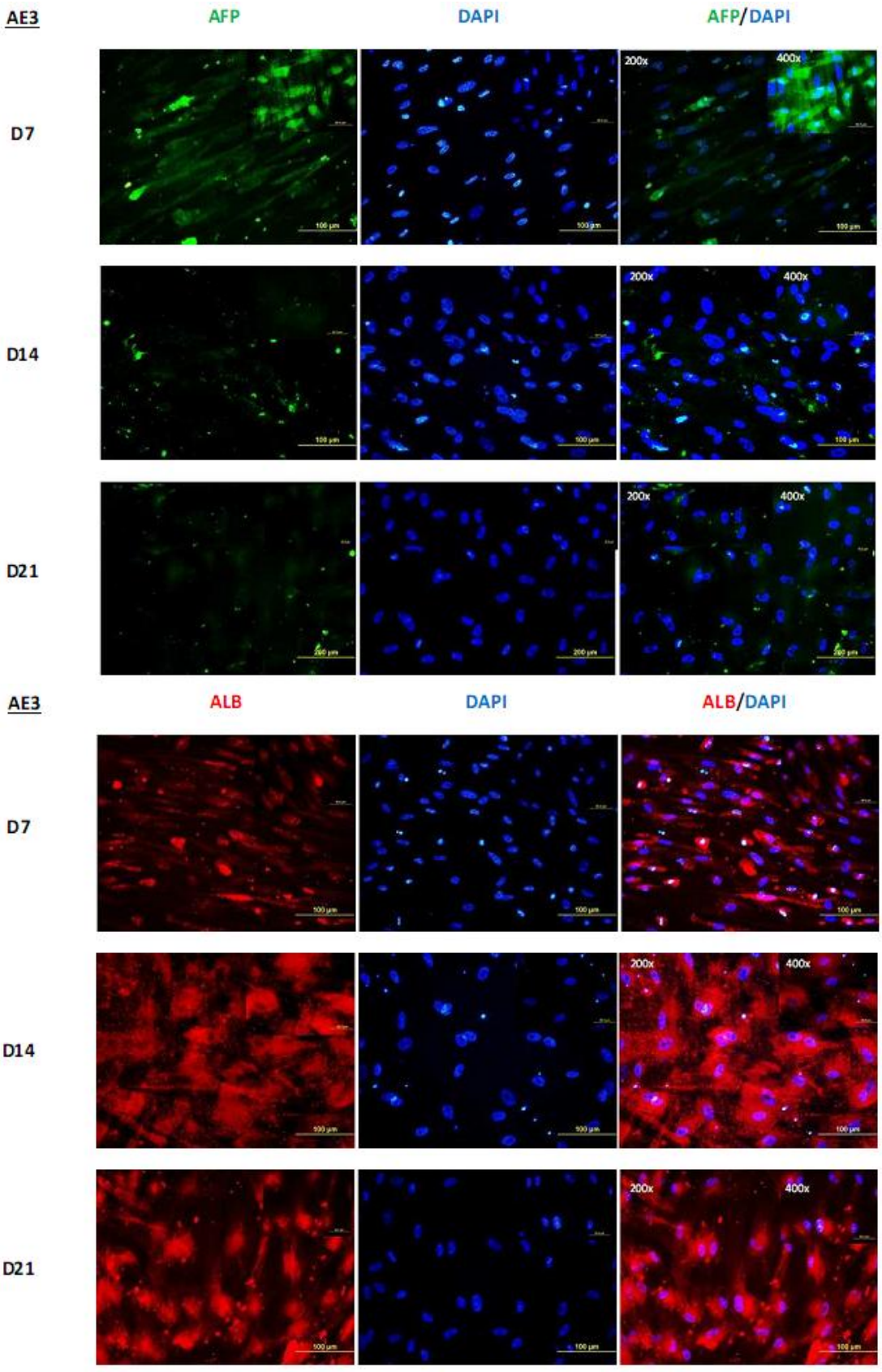
Markers	**D7**	**D14**	**D21**
AFP	+++	++	+
ALB	++++	+++	++
CK18	-	-	-

ตารางที่ 3 การแสดงออกต่อโปรตีนที่จำเพาะต่อเซลล์ตับของเซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำสายพันธุ์ AE3 ด้วยวิธี immunocytochemistry

Markers	**D7**	**D14**	**D21**
AFP	+++	++	+
ALB	+++	++++	++++
CK18	-	-	-



รูปที่ 6 การแสดงออกของ alpha-fetoprotein (AFP) และ albumin (ALB) ภายหลังการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดจากถุงน้ำคร่ำสายพันธุ์ AE2 เป็นเซลล์ตับ กำลังขยาย 100 x



รูปที่ 7 การแสดงออกของ alpha-fetoprotein (AFP) และ albumin (ALB) ภายหลังการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำสายพันธุ์ AE3 เป็นเซลล์ตับ กำลังขยาย 200 x

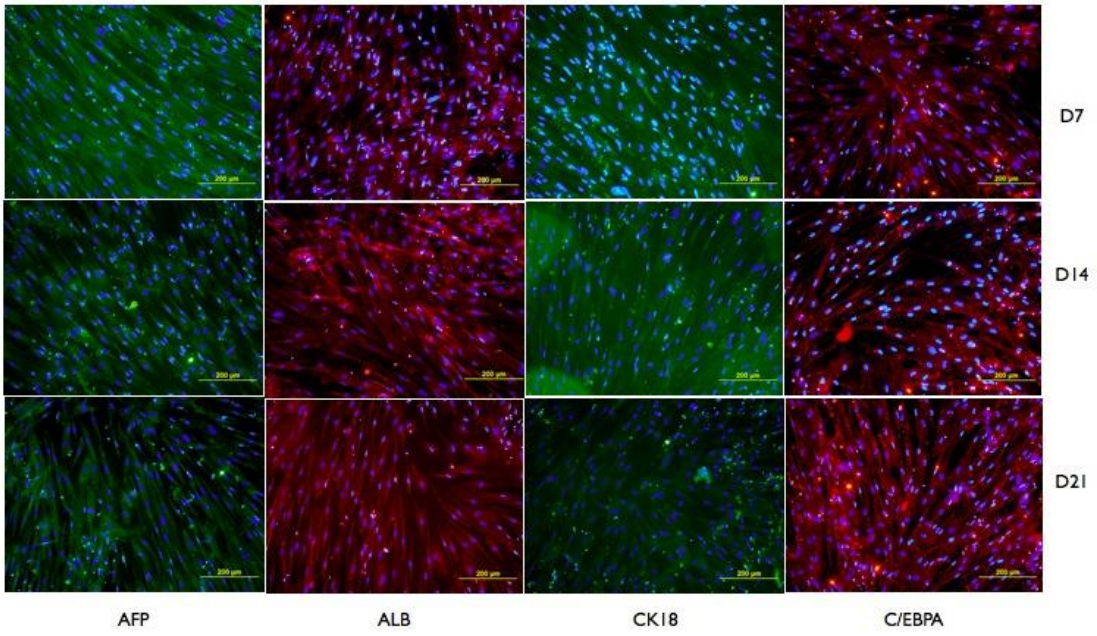
อย่างไรก็ตาม โปรตีนที่จำเพาะต่อเซลล์ตับ cytokeratin 18 (CK18) ไม่สามารถตรวจพบได้ในตัวอย่างเซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำทั้ง 2 สายพันธุ์ ตลอดระยะเวลาการเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์ตับ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากสูตรน้ำยาที่ยังไม่มีความเหมาะสมพอต่อการเหนี่ยวนำเซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำให้เป็นเซลล์ตับ หรืออาจเกิดเนื่องจากสายพันธุ์ AE2 และ AE3 ที่นำมาใช้ตรวจสอบหลงเหลือคุณสมบัติ pluripotent ของเซลล์ต้นกำเนิดน้อยลง (ตารางที่ 1) เนื่องจาก passage ที่นำมาใช้ทดสอบสำหรับสายพันธุ์ดังกล่าวคือ passage ที่ 5 ซึ่งทำให้การแสดงออกของโปรตีนที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิดลดน้อยลงตามการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของเซลล์อิพิทีเลี่ยมของถุงน้ำคร่ำที่มากขึ้น จึงเป็นการยากที่จะเปลี่ยนแปลงให้เป็นเซลล์ตับอย่างสมบูรณ์ แม้กระนั้นยังต้องการการทดลองเพิ่มเติมเพื่อพิสูจน์แนวคิดที่เกิดขึ้นว่า เกิดจากสูตรน้ำยา หรือจำนวน passage หรือเป็นผลภายในของแต่ละสายพันธุ์

จากข้อจำกัดดังกล่าว จึงได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมอีก 1 ครั้ง โดยเลือกเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำชุดใหม่ 3 สายพันธุ์ (AE4, AE7 และ AE8) ที่มีการแสดงออกของคุณสมบัติต่อเซลล์ต้นกำเนิด และมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีมาทำการศึกษา โดยทำการตรวจโปรตีนจำเพาะต่อการพัฒนาเป็นเซลล์ตับ ได้แก่ การแสดงออกของ alpha-fetoprotein (AFP), albumin (ALB), CK18 และ CCAAT/enhancer binding protein alpha (C/EBPA) พบว่า ทั้ง 3 สายพันธุ์มีแนวโน้มของการแสดงออกโปรตีนที่จำเพาะต่อการพัฒนาเป็นเซลล์ตับคล้าย คลึงกัน และคล้ายคลึงกับการทำการทดลองครั้งก่อนโดย AFP และ ALB มีการแสดงออกที่ต่อเนื่อง และมีการเพิ่มลดระดับเป็นไปในแนวทางเดียวกัน (ตารางที่ 4)

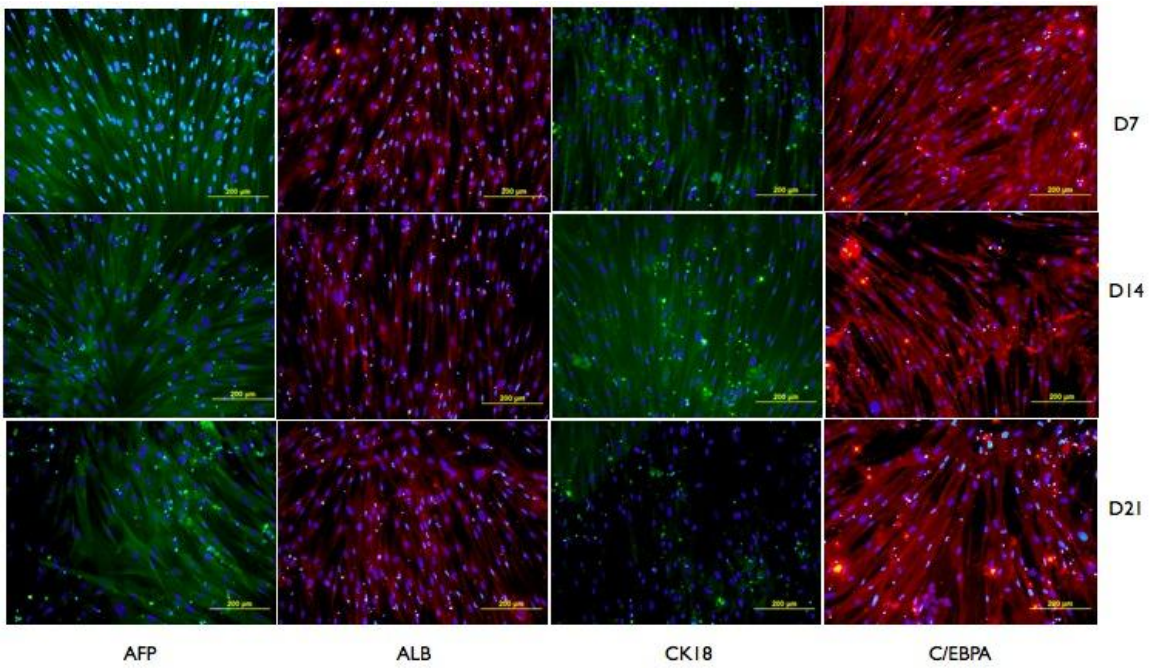
ตารางที่ 4 สรุปรูปแบบการแสดงออกต่อโปรตีนที่จำเพาะต่อเซลล์ตับของเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำมนุษย์ ทั้ง 3 สายพันธุ์ (AE4, AE7 และ AE8) ด้วยวิธี immunocytochemistry

Markers	**D7**	**D14**	**D21**
AFP	+++	++	+
ALB	+++	+++	+++
CK18	+	+	+
C/EBPA	++	++	++

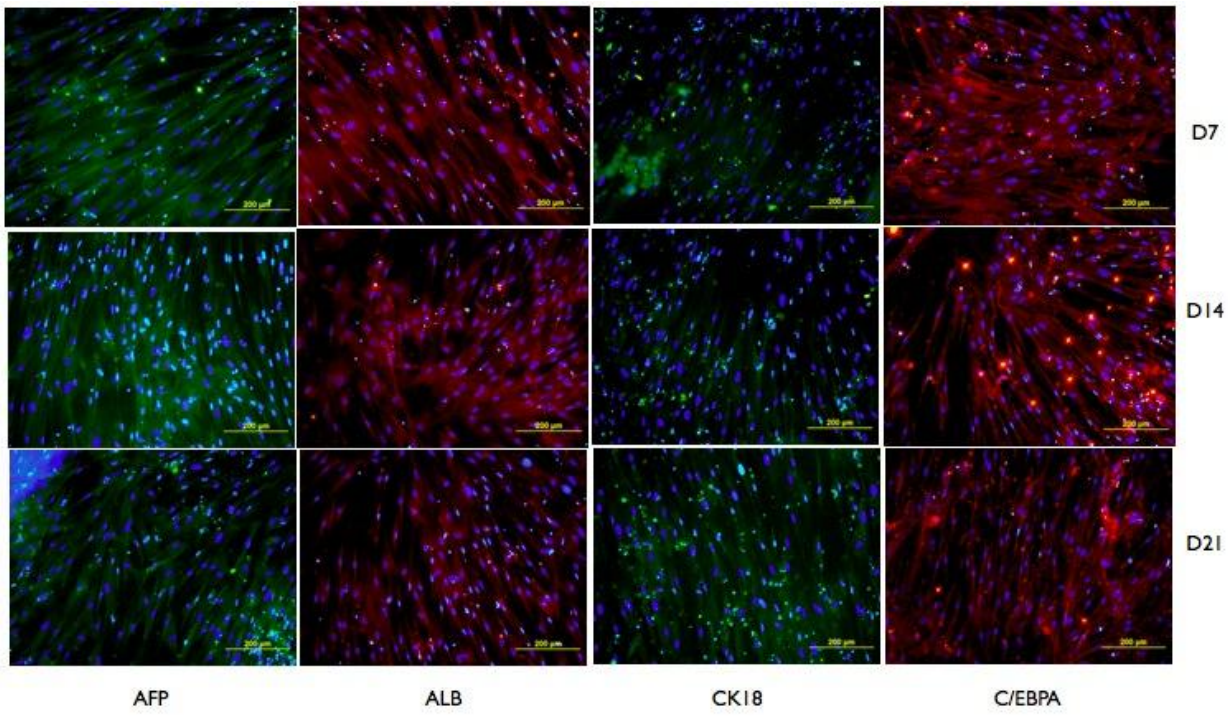
พบว่าในกรณีของ albumin นั้น เซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำมนุษย์มีการแสดงออกของโปรตีนดังกล่าวตั้งแต่ในระยะแรกๆ และมีการแสดงออกต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์ ทั้งในกรณีของการเหนี่ยวนำให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ตับ และในการเพาะเลี้ยงธรรมดาสอดคล้องกันกับที่ได้เคยมีการรายงานเอาไว้แล้วก่อนหน้า (Miki, 2005) ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวอาจจะเป็นคุณสมบัติที่ส่งผลให้เซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำมีศักยภาพในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ตับได้ดียิ่งขึ้น นอกเหนือไปจากโปรตีน 2 ชนิดข้างต้นแล้ว โปรตีนที่จำเพาะต่อเซลล์ตับ cytokeratin 18 (CK18) และ C/EBPA ก็มีรูปแบบของการแสดงออกที่คล้ายกัน กล่าวคือจากการทำการทดลองครังนี้ พบว่าสามารถตรวจพบได้ในตัวอย่างเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำทั้ง 3 สายพันธุ์ ตลอดระยะเวลาการเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์ตับ และไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเซลล์ ในแต่ละระยะเช่นเดียวกับที่พบในกรณีของ AFP และ ALB โดยในราย CK18 นั้น พบในปริมาณที่น้อย



รูปที่ 8 การแสดงออกของ alpha-fetoprotein (AFP), albumin (ALB), cytokeratin18 (CK18) และ CCAAT/enhancer binding protein alpha (C/EBPA) ภายหลังการเหนี่ยวนำ เซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำสายพันธุ์ AE4 เป็นเซลล์ตับ กำลังขยาย 100 x



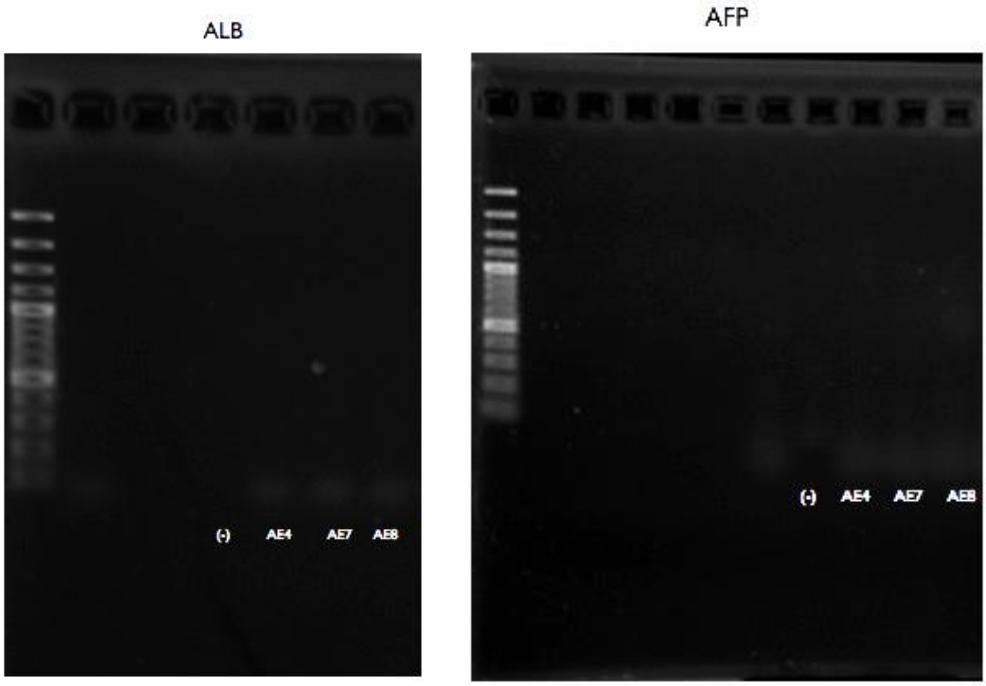
รูปที่ 9 การแสดงออกของ alpha-fetoprotein (AFP), albumin (ALB), cytokeratin18 (CK18) และ CCAAT/enhancer binding protein alpha (C/EBPA) ภายหลังการเหนี่ยวนำ เซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำสายพันธุ์ AE7 เป็นเซลล์ตับ กำลังขยาย 100 x



รูปที่ 10 การแสดงออกของ alpha-fetoprotein (AFP), albumin (ALB), cytokeratin18 (CK18) และ CCAAT/enhancer binding protein alpha (C/EBPA) ภายหลังการเหนี่ยวนำ เซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำสายพันธุ์ AE8 เป็นเซลล์ตับ กำลังขยาย 100 x

3.การตรวจคุณลักษณะของเซลล์คล้ายตับที่ได้จากการกระตุ้นเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR)

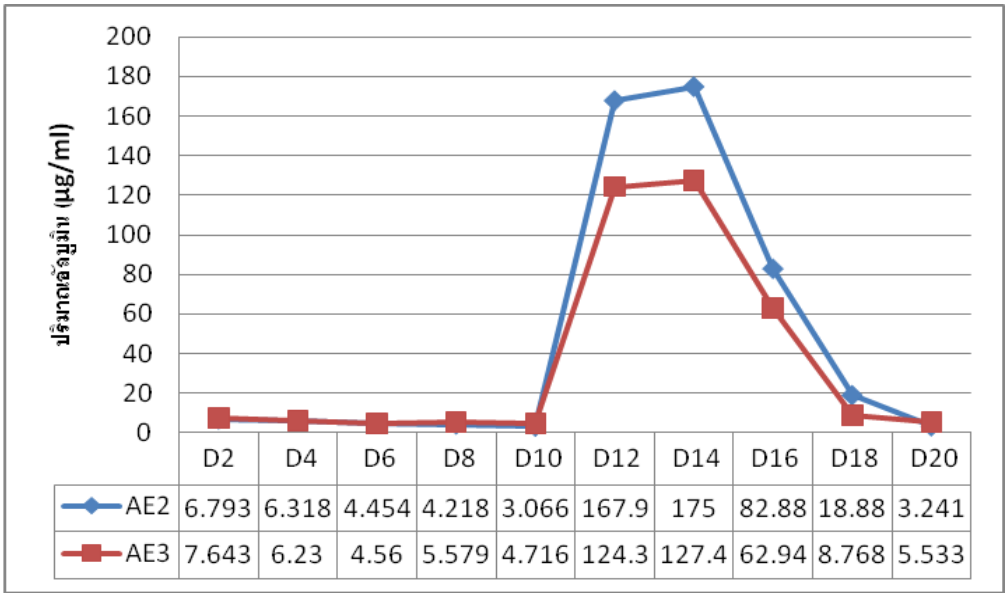
ทำการตรวจวัดการแสดงออกของยีนสำคัญที่เกี่ยวข้องต่อการพัฒนาของเซลล์ตับ เมื่ออยู่ในร่างกายปกติ RT-PCR จำนวน 4 ยีน ได้แก่ albumin (ALB), alpha-fetoprotein (AFP), CYP2B6 และ Tyrosine aminotransferase (TAT) โดยในการทำการศึกษาครั้งนี้ เริ่มทดลองทำการศึกษาก่อนในแต่ละช่วงเวลาของการเหนี่ยวนำเซลล์ให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์เป้าหมาย (d0, d7, d14 และ d21) แต่พบว่า เซลล์ในช่วงระยะเวลาเสร็จสิ้นขั้นตอนการเหนี่ยวนำมีการตอบสนองต่อยีนต่างๆที่ทำการตรวจในระดับต่ำ จึงพิจารณาทำการตรวจสอบเซลล์ภายหลังจากเสร็จสิ้นขั้นตอนของการเหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์ตับแล้ว (d21) ผลจากการทำการทดลองพบว่า เซลล์ทั้ง 3 สายพันธุ์มีการแสดงออกของยีนที่สำคัญดังกล่าวเหมือนกันคือให้ผลบวกต่อ ALB และ AFP แต่ไม่ให้ผลบวกต่อยีนที่สำคัญอีก 2 ตัวได้แก่ TAT และ CYP2B6 อย่างไรก็ตาม การที่พบว่าเซลล์ที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงนี้ มีการแสดงออกของยีน Albumin ซึ่งถือว่าเป็นยีนที่สำคัญ และถูกสร้างโดยเซลล์ตับเท่านั้น ทำให้อนุมานได้ว่า เซลล์ที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงไปใกล้เคียงกับเซลล์ตับ(รูปที่ 11)



รูปที่ 11 ผลการทดสอบคุณสมบัติของเซลล์เป้าหมาย (d21) จากการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำมนุษย์ไปเป็นเซลล์ตับ ต่อยีนที่สำคัญของเซลล์ตับด้วยวิธี RT-PCR

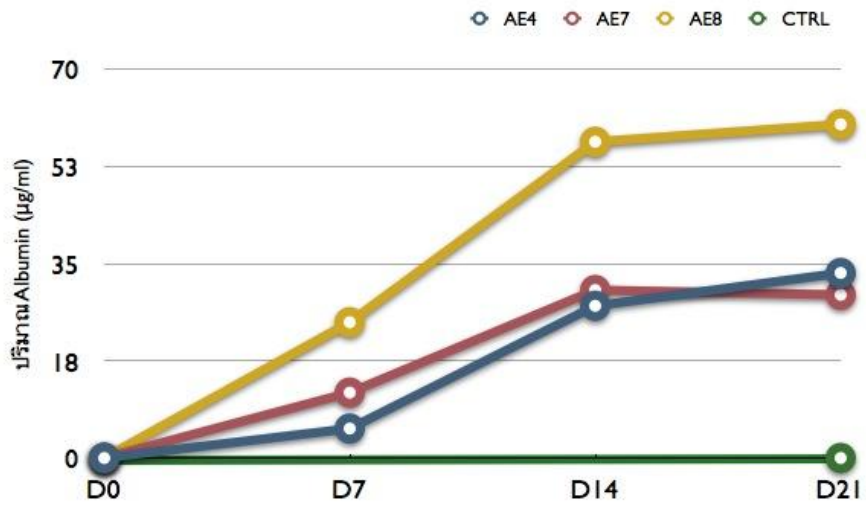
4.เซลล์ที่มีคุณลักษณะคล้ายเซลล์ตับสามารถสร้างอัลบูมิน (albumin)

จากการทำการทดลองในครั้งแรก เมื่อนำน้ำยาที่ใช้เลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำเป็นเซลล์ตับไปตรวจหาโปรตีน Albumin (รูปที่ 12 และ 13) พบว่า มีการสังเคราะห์โปรตีนชนิดนี้เพิ่มสูงขึ้น โดยสายพันธุ์ AE2 และ AE3 มีการสร้างอัลบูมินสูงถึง 167.9 และ 124.3 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นโปรตีนดังกล่าวถูกสร้างลดลง ส่วนในการทำการศึกษาครั้งที่ 2 (AE4, AE7, AE8) พบว่า สายพันธุ์ AE8 มีการสร้างอัลบูมินสูงที่สุดใน 3 สายพันธุ์ที่ทำการตรวจสอบ โดยเพิ่มระดับขึ้นสูงในประมาณวันที่ 14 ของการเหนี่ยวนำ และรักษาระดับดังกล่าวไว้จนสิ้นสุดการเหนี่ยวนำ อย่างไรก็ตาม พบว่าใน สายพันธุ์ AE7 นั้นมีการสร้าง Albumin และหลั่งออกมาในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ที่ลดลงกว่าเดิมในช่วงสุดท้าย ในขณะที่อีก 2 สายพันธุ์ที่เหลือยังคงสามารถรักษาระดับการสร้าง และหลั่ง Albumin ได้เช่นเดิม ส่วนในรายของเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำ ที่ไม่ได้รับการเหนี่ยวนำ ซึ่งใช้เป็นตัวควบคุม พบว่าเซลล์ไม่สามารถสร้าง และหลั่ง Albumin ออกมาในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ตลอดระยะเวลาที่เลี้ยงควบคู่ไปกับการเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์ตับ โดยตรวจไม่พบปริมาณ Albumin ทั้งในระยะเริ่มต้น (d0) และระยะสิ้นสุดการทดลอง (d21)



	D2	D4	D6	D8	D10	D12	D14	D16	D18	D20
AE2	6.793	6.318	4.454	4.218	3.066	167.9	175	82.88	18.88	3.241
AE3	7.643	6.23	4.56	5.579	4.716	124.3	127.4	62.94	8.768	5.533

รูปที่ 12 ปริมาณ Albumin ที่ถูกสร้างขึ้นจากเซลล์ตับที่เปลี่ยนแปลงมาจากเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำ (1)



Cell/Day	D0	D7	D14	D21
AE4	0	5.3	27.38	33.3
AE7	0	11.77	30.23	29.37
AE8	0	24.43	56.91	60.05
CTRL	0	-	-	0

รูปที่ 13 ปริมาณ Albumin ที่ถูกสร้างขึ้นจากเซลล์ตับที่เปลี่ยนแปลงมาจากเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำ (2) เปรียบเทียบกันกับ ตัวควบคุม (CTRL) ซึ่งได้แก่เซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำที่ไม่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ตับ

5. อภิปรายและวิจารณ์ผล

จากการทำการทดลองครั้งนี้ พบว่า เซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำมีศักยภาพที่จะได้รับการเหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์เป้าหมายชนิดต่างๆได้ โดยเฉพาะในกรณีที่ต้องการจะได้เซลล์เป้าหมายเป็นเซลล์ตับในครั้งนี้ เนื่องจากหลายปัจจัยสำคัญ ได้แก่ การที่เซลล์มีการแสดงออกของยีน หรือโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ตับหลายตัว เช่น AFP และ ALB โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ALB ซึ่งพบว่ามีการแสดงออกของยีนดังกล่าวแม้ในเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำที่ไม่ได้รับการเหนี่ยวนำใดๆ ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกันกับที่ได้เคยมีการรายงานมาแล้วก่อนหน้า (Miki, 2005) แม้ว่าเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำจะไม่ได้แสดงผลบวกต่อโปรตีน หรือยีนที่ใช้แสดงคุณสมบัติของการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดได้ทุกชนิดก็ตาม แต่การที่พบว่าเซลล์ยังคงมีคุณสมบัติดังกล่าวอยู่บ้างบางชนิดนั้น ก็อาจจะใช้เป็นสิ่งยืนยันได้ว่า เซลล์อาจจะยังคงมีคุณสมบัติ pluripotency อยู่ เซลล์ชนิดนี้มีการเจริญเติบโตภายใต้การเพาะเลี้ยงที่ดี มีการเลี้ยงต่อเพื่อขยายปริมาณได้หลายๆครั้ง ต่างจากเซลล์ไฟโบรบลาสต์โดยทั่วไป

การทดลองเหนี่ยวนำเซลล์ไปเป็นเซลล์ตับซึ่งเป็นเซลล์เป้าหมายในครั้งนี้ ได้ทำการศึกษา 2 ครั้งกับเซลล์ 2 ชุด เซลล์ชุดแรกที่เลือกมาใช้ในการทำการศึกษา แม้ว่าจะมีการเจริญเติบโตดีภายใต้การเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และสามารถพัฒนาไปจนสู่ระยะที่มีการแสดงออกถึงคุณสมบัติหลายๆประการแล้วก็ตาม การขาดการแสดงออกของยีน หรือโปรตีนที่สำคัญของตับบางตัว (เช่น CK18) ในกรณีนี้ยังถือว่าไม่น่าพอใจนัก ทางผู้ทำการทดลองจึงได้ทำการทดลองซ้ำใหม่ โดยทำการคัดเลือกเซลล์ชุดใหม่เข้ามาทำการทดลอง รวมถึงปรับสูตรน้ำยา และรูปแบบในการเลี้ยงและการเหนี่ยวนำเซลล์ให้เหมาะสมมากขึ้น นอกเหนือไปจากนั้นอีกหนึ่งปัจจัยที่มีผลอย่างมากได้แก่ การที่พิจารณาเลือกเซลล์ใน passage สูงๆมาใช้ในการทำการเหนี่ยวนำ ในการทำการทดลองครั้งที่ 2 ทางผู้ทำการทดลองจึงได้เลือกใช้เซลล์ใน passage ที่อ่อนขึ้นมาใช้ เพราะถึงแม้ว่าเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำจะมีรายงานว่าสามารถเจริญอยู่ภายใต้การเลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้มากกว่า 50 passage (Takahashi, 2004) โดยเซลล์ยังคงรักษาคุณสมบัติเอาไว้ได้ เช่นเดียวกันกับเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนก็ตาม การที่เซลล์มีคุณสมบัติที่ใกล้เคียงกับเซลล์ไฟโบรบลาสต์ด้วย ทำให้กระบวนการ aging ก็เกิดขึ้นได้ง่ายเช่นกัน

ผลจากการทำการทดลองครั้งที่ 2 นี้ พบว่าเซลล์ให้ผลบวกต่อการตรวจสอบคุณสมบัติของเซลล์ตับต่อโปรตีนที่สำคัญทั้ง 4 ตัว ถึงแม้จะมีการตอบสนองที่น้อย หรือขาดหายไปในบางตัวอย่างบ้างในรายของ CK18 ก็ตาม ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากปัจจัยหลายๆด้านในขั้นตอนของการเหนี่ยวนำที่อาจจะมีความผันแปรไป และต้องการความจำเพาะในแต่ละสายพันธุ์ รวมไปถึงอาจมีความจำเป็นในการปรับปรุงรูปแบบการเหนี่ยวนำ และสูตรน้ำยาที่ใช้ในการเลี้ยงให้เฉพาะมากยิ่งขึ้น ซึ่งต้องพิจารณาร่วมด้วย อย่างไรก็ตาม การทำการทดลองในครั้งนี้ประสพความสำเร็จในการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำไปเป็นเซลล์ตับ และได้เซลล์ที่แสดงคุณสมบัติในการเป็นเซลล์เป้าหมายได้ดีขึ้นจากการทดลองที่ได้นำเสนอในครั้งที่แล้ว เนื่องจากการทดลองครั้งก่อน ไม่มีเซลล์สายพันธุ์ใดเลยที่แสดงผลบวกต่อ CK 18

ส่วนในการตรวจสอบยีนที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ตับโดยการใช้ RT-PCR ก็พบการตอบสนองที่คล้ายคลึงกัน กล่าวคือเซลล์ให้ผลบวกต่อยีน AFP และ ALB แต่ไม่ตอบสนองต่อ TAT และ CYP2B6 ถึงแม้ว่ายีน 2

ชนิดดังกล่าวที่ไม่มีการแสดงออกจะถือว่าเป็นยีนที่สำคัญ แต่การพบการแสดงออกของยีน ALB ร่วมกันกับการให้ผลบวกต่อ ALB เช่นกัน เมื่อตรวจโปรตีนด้วยวิธี ICC ที่ถือว่าเป็นยีนที่สำคัญ นอกไปจากนั้นแล้ว การที่เซลล์ยังสามารถผลิต และหลั่ง Albumin ออกมาในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ได้ ก็ถือว่าเป็นสิ่งยืนยันถึงการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมากยิ่งขึ้น การศึกษาต่อเนื่องในส่วนของ Quantitative PCR เพื่อหาความสัมพันธ์ และระดับการแสดงออกของแต่ละยีน ในแต่ละช่วงเวลาของการเหนี่ยวนำก็เป็นสิ่งที่ควรพิจารณาศึกษาต่อ

กรณีของการสร้าง และหลั่ง Albumin ออกมาในน้ำยาเลี้ยงเซลล์นั้น การที่เซลล์จากการทดลองครั้งที่ 2 มีการรักษาระดับของการสร้าง และหลั่ง Albumin เอาไว้ได้ อาจสามารถใช้ยืนยันได้ว่า วิธีการที่ใช้ในการเหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์ตับที่ได้รับการปรับปรุงนี้ มีศักยภาพที่สูงมากยิ่งขึ้น ถึงแม้ว่าการทำการศึกษาในครั้งที่ 2 นี้ พิจารณาทำการตรวจสอบในวันสุดท้ายของแต่ละช่วงเวลาของการเหนี่ยวนำ (d0, d7, d14, d21) แทนการทำการตรวจสอบในทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนน้ำยา เนื่องมาจากพบว่าค่าที่ได้จากการทำการศึกษาในครั้งแรกนั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนักในช่วงเวลาสั้นๆ ผลจากการลดช่วงเวลาตรวจสอบลง ต่อการตรวจสอบการสร้างและการหลั่ง Albumin ของเซลล์นั้นก็ถือว่าพอเพียงต่อการมองภาพรวมดังกล่าวได้ ในกรณีนี้การทำการทดลองต่อเนื่องถึงศักยภาพในการสร้าง และหลั่งโปรตีน Albumin ภายหลังจากการสิ้นสุดการเหนี่ยวนำควรจะได้รับการทำการศึกษาต่อไป ในการทดลองครั้งนี้ ถึงแม้ว่าจะพบการแสดงออกต่อ Albumin ด้วยวิธี PCR และ ICC ในเซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำที่ไม่ได้รับการเหนี่ยวนำก็ตาม แต่ไม่พบการสร้างและหลั่งโปรตีนดังกล่าวออกมาในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ตลอดระยะเวลาที่ทำการเลี้ยงในกลุ่มที่ไม่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ตับ (กลุ่มควบคุม) การที่พบว่าเซลล์ที่ได้รับการเหนี่ยวนำ สามารถแสดงผลบวกต่อโปรตีน และยีนที่สำคัญของเซลล์ตับ ร่วมกันกับการสร้าง และหลั่ง Albumin ออกมาในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ได้ รวมไปถึงการที่มีเพียงเซลล์ตับเท่านั้น ที่มีหน้าที่หลักในการผลิตโปรตีนชนิดนี้ ก็อาจจะทำให้พออนุมานได้ว่า เซลล์ที่ได้จากการเหนี่ยวนำนี้มีการเปลี่ยนแปลงไปใกล้เคียงกันกับเซลล์ ตับมากยิ่งขึ้น โดยผลจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเซลล์ที่ได้รับการเหนี่ยวนำ สามารถสร้างและหลั่ง Albumin ได้มากกว่าเซลล์ในกลุ่มควบคุมอย่างน้อยถึง 30 เท่า

จากการทำการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า เซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำมีศักยภาพที่จะได้รับการเหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์ตับได้ ถึงแม้ว่าเซลล์เป้าหมายที่ได้จะไม่ใช่เซลล์ตับโดยสมบูรณ์ อันเนื่องมาจากการขาดหายไปของคุณสมบัติหลายๆประการ แต่ก็ถือว่ามีความใกล้เคียงทั้งในด้านของการแสดงออกถึงคุณสมบัติ และการทำหน้าที่ที่สำคัญ

6.สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัยที่ได้พบว่า เซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำมีศักยภาพในการเจริญไปเป็นเซลล์เป้าหมายได้ การทำการตรวจสอบคุณสมบัติของความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ชนิดนี้ อาจจะมีความจำเป็นต้องทำการตรวจสอบในระดับยีน (PCR) แทนการตรวจสอบโปรตีน (ICC) เช่นเดิม อันเนื่องมาจาก ความเป็นไปได้ที่เซลล์ชนิดนี้มีการตอบสนองต่อการตรวจทางโปรตีนที่ต่ำ เช่นที่มีการรายงานเอาไว้ในหลายๆผลงานวิจัยตีพิมพ์ การทำการศึกษาต่อเนื่องเพิ่มเติมทั้งในส่วนของ Quantitative PCR เพื่อหาความสัมพันธ์ หรือลักษณะการแสดง

ออกของยีน การศึกษาถึงการทำหน้าที่ของตับ (Functional test) ในเซลล์ที่ได้จากการเหนี่ยวนำ ล้วนแต่มีความจำเป็นที่จะได้รับการศึกษาต่อ เพื่อที่จะได้สามารถยืนยันผลได้แน่นอนมากขึ้น โดยองค์ความรู้ดังที่ได้จากการศึกษานี้ จะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ เพื่อวัตถุประสงค์ทางการแพทย์ หรือการศึกษาต่อยอดต่อไปในอนาคตได้

7.บรรณานุกรม

Akle, C. A., Adinolfi, M., Welsh, K. I., Leibowitz, S. and McColl, I. 1981. Immunogenicity of human amniotic epithelial cells after transplantation into volunteers. Lancet. 2:1003-1005.

Diwan, S. B. and Stevens, L. C. 1976 . Development of teratomas from the ectoderm of mouse egg cylinders. J Natl Cancer Inst. 57: 937-942.

Elwan, M. A. and Sakuragawa, N. 1997. Evidence for synthesis and release of catecholamines by human amniotic epithelial cells. Neuroreport. 8:3435-3438.

Fukuchi, Y., Nakajima, H., Sugiyama, D., Hirose, I., Kitamura, T. and Tsuji, K. 2004. Human placenta-derived cells have mesenchymal stem/progenitor cell potential. Stem Cells. 22: 649-658.

Kakishita, K., Elwan, M. A., Nakao, N., Itakura, T.and Sakuragawa, N. 2000. Human amniotic epithelial cells produce dopamine and survive after implantation into the striatum of a rat model of Parkinson's disease: a potential source of donor for transplantation therapy. Exp Neurol. 165: 27-34.

Kim, J., Kang, H. M., Kim, H., Kim, M. R., Kwon, H. C., Gye, M. C., Kang, S. C., Yang, H. S. and You, J. 2007. Ex vivo characteristics of human amniotic membrane-derived stem cells. Cloning and Stem Cells. 9: 581-594.

Kogler, G., Sensken, S. and Airey, J.A. 2004. A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. J Exp Med. 200: 123-135.

Miki, T., Lehmann, T., Cai, H., Stoltz, D. B., and Strom, S. C. 2005. Stem cell characteristics of amniotic epithelial cells. Stem Cells. 23: 1549-1559.

Miki, T. and Strom, S. C. 2006. Amnion-derived pluripotent / multipotent stem cells. Stem Cells Reviews. 2: 133-141.

Romanov, Y. A., Svintsitskaya, V.A. and Smirnov, V. N. 2003. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. Stem Cells 21: 105-110.

Sakuragawa, N., Tohyama, J.and Yamamoto, H. 1995. Immunostaining of human amniotic epithelial cells: possible use as a transgene carrier in gene therapy for inborn errors of metabolism. Cell Transplant. 4:343-346.

Takahashi,. K, Igura, K., Zhang, X., Mitsuru, A. and Takahashi, T. A. 2004. Effects of osteogenic induction on mesenchymal cells from fetal and maternal parts of human placenta. Cell Transplant. 13: 337-341.

Takashima, S., Ise, H., Zhao, P., Akaike, T. and Nikaido, T. 2004. Human amniotic epithelial cell posses hepatocyte-like characteristics and functions. Cell Structure and Function 29: 73-84.

Tsai, M. S., Lee, J. L., Chang, Y. J. and Hwang, S. M. 2004. Isolation of human multipotent mesenchymal stem cells from second-trimester amniotic fluid using a novel two stage culture protocol. Hum Reprod. 19: 1450-1456.

ประวัติผู้วิจัย

ผศ. ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นาย รังสรรค์ พาลพ่าย

(ภาษาอังกฤษ) Mr. Rangsun Parnpai

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 52 2094 00002 42 3

3. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้

ที่ทำงาน: สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
111 ถ.มหาวิทยาลัย ต.สุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000
โทร. 044-224234 โทรสาร. 044-224154

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

4. ประวัติการศึกษา

4.1. ปริญญาตรี สาขาวิชา ชีววิทยา ปีที่จบ 2523
สถาบัน มหาวิทยาลัยบูรพา ประเทศ ไทย

4.2. ปริญญาโท สาขาวิชา สัตววิทยา ปีที่จบ 2525
สถาบัน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศ ไทย
Thesis title: Plasma progesterone and oestrone sulphate during early pregnancy in swamp buffalo.

4.3. ปริญญาเอก สาขาวิชา Animal Reproduction ปีที่จบ 2541
สถาบัน Kyoto University ประเทศ ญี่ปุ่น (ได้รับทุนรัฐบาลญี่ปุ่น)
Thesis title: Study on the establishment of bovine embryonic stem cells.

4.4. ฝึกอบรมสาขา Embryo transfer and *in vitro* fertilization in farm animals.
ด้วยทุน British Council
สถาบัน Cambridge University, U.K. ระหว่าง พฤศจิกายน 2527 - กุมภาพันธ์ 2528.

4.5. สมาชิกสมาคมวิชาชีพ: International Embryo Transfer Society (IETS)

5. ประวัติการทำงาน:

- 9 ธันวาคม 2525 – 31 ตุลาคม 2543 นักวิจัย โครงการวิจัยวิทยาศาสตร์ไทย-เนเธอร์แลนด์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ

- 1 พฤศจิกายน 2543–ปัจจุบัน อาจารย์ประจำสาขาเทคโนโลยีชีวภาพสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา

6. สาขาวิชาที่มีความเชี่ยวชาญพิเศษ

6.1 การโคลนนิ่งตัวอ่อนโค กระบือ สุกร แมว โดยใช้เซลล์ร่างกายเป็นเซลล์ต้นแบบ

6.2 การย้ายฝากตัวอ่อนโค กระบือ แพะ

6.3 การปฏิสนธิในหลอดแก้วโค กระบือ

6.4 Embryonic stem cells

6.5 Cryopreservation of gametes and embryos

7. ผลงานวิจัย

7.1. ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

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. Accepted 13 January 2011

Imsoonthornruksa, S., 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. doi:10.1016/j.jbiotec.2010.12.020

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(1) : 67-73.

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.

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.

Liang, Y., Phermthai, T., Nagai, T., Somfai, T. and Parnpai, R. 2010. In vitro development of vitrified buffalo oocytes following parthenogenetic activation and intracytoplasmic sperm injection. Theriogenology Accepted 31 December 2010.

Srirattana, K., Matsukawa,K., Akagi, S., Tasai, M., Tagami, T., Nirasawa, K., Nagai, T., Kanai, Y., Parnpai, R. and Takeda, K. 2010. Constant transmission of mitochondrial DNA in intergeneric cloned embryos reconstructed from swamp buffalo fibroblasts and bovine ooplasm. Anim. Sci. J. Accepted 09/04/2010.

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.

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.

Thumanu, K., Tanthanuch, W., Ye, D., Sangmalee, A., Lorthongpanich, C., Heraud, P., and Parnpai, R. 2010. Spectroscopic signature of mouse embryonic stem cells derived hepatocytes using Synchrotron FTIR microspectroscopy. J. Biomedical Otic Submitted 28 August 2010

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. 2009. Monkey Hybrid Stem Cells Develop Cellular Features of Huntington's Disease. BMC Cell Biology. Accepted 24 December, 2009.

Sripunya, N., Somfai, T., Inaba, Y., Nagai, T., Imai, K. and Parnpai, R. 2009. 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. 2009. Effect of donor cell types on developmental potential of cattle (Bos taurus) and swamp buffalo (Bubalus bubalis) cloned embryos. J. Reprod. Dev. 56: 49-54.

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

Suteevun-Phermthai, T., Curchoe, C.L., Evans, A.C., Boland, E., Rizos, D., Fair, T., Duffy, P., Sung, L.Y., Du, F., Chaubal, S., Xu, J., Wechayant, T., Yang, X., Lonergan, P., Parnpai, R., and Tian, X. 2009.

Allelic switching of the imprinted IGF2R gene in cloned bovine fetuses and calves. Anim. Reprod. Science. 116: 19-27.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Parnpai, R., Tasripoo, K. and Kamonpatana, M. 2001. Cloning of pig embryo by using ear fibroblasts and tail muscle cells as donor nuclei : Effect of time after maturation and fusion parameters on the rate of fusion and development of embryo. Thai J. Agri. Sci. 34: 187-194.

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

7.2. ตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติ

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

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

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

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

7.3. นำเสนอในการประชุมนานาชาติ

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

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

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

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

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

embryos. Proceeding of the Annual Conference of International Embryo Transfer Society, 3-6 January, 2009, San Diego, USA, Published in Reprod. Fert. Dev. 21: 126.

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

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

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

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

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

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

Srirattana, K., Imsoonthornruksa S., Tunwattana, W., Lorthongpanich, C., Laowtammathron, C., Sripunya, Keawmungkun, K., Wanwisa, P., Ketudat-Cairns, M. and Parnpai, R. 2007. Telomerase activity of in inter-species somatic cell nuclear transfer gaur embryos. Proceeding of the 4th Asian Reproductive

Biotechnology Conference, 24-26 November, 2007. National University of Singapore, Singapore: p. 130.

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

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

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

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

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

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

Parnpai, R., Muenthaisong, S., Suteevun, T., Na-Chiangmai, A., Laowtammathron, C., Lorthongpanich, C., Sanghuayphrai, N. and Ketudat Cairns, M. 2006. Production of swamp buffalo emryos: Comparison of

in vitro fertilization and somatic cell nuclear transfer techniques. Proceeding of the 5th Asian Buffalo Congress, Naning, China, 18-22 April, 2006, p. 616-620.

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

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

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

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

Laowtammathron, C., Imsoonthornraksa, S., Mueanthaisong, S., Lorthongpanich, C., Vetchayun, T., Sang-ngam, C., Tangthai, C., Ketudat-Cairns, M. and Parnpai. R. 2005. Effect of two concentrations of cryoprotectant in vitrification solution on post-warmed survival of cloned bovine blastocysts vitrified by micro-drop technique. Proceeding of the 12th International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction. Chiangmai, Thailand, 4-6 August 2005, p. 135-140.

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

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

Laowtammathron, C., Terao, T., Lorthongpanich, C., Muenthaisong, S., Vetchayan, T., Hochi, S., and Parnpai, R. 2004. Effect of hatching status on vitrification of cloned bovine blastocysts. Proceeding of

Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society Conference, Portland, USA, 10-14 January, 2004. Published in Reprod. Fert. Dev. 16: 174.

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

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

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

Parnpai, R., Laowtammathron, C., Terao,T., Lorthongpanich, C., Muenthaisong, S., Vetchayan, T., and Hochi, S. 2004. Development into blastocysts of swamp buffalo oocytes after vitrification and nuclear transfer. Proceeding of Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society Conference. Portland, USA, 10-14 January, 2004, Published in Reprod. Fert. Dev. 16: 180-181.

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

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

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

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

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

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

Parnpai, R., Tasripoo, K. and Kamonpatana, M. 2001. Developmental potential of vitrified cloned swamp buffalo morulae derived from granulosa cells. Proceeding of Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society Conference, Omaha, USA, 13-16 January, 2001, Published in Theriogenology 55: 284.

Parnpai, R., Tasripoo, K. and Kamonpatana, M. 2000. Developmental potential of cloned bovine embryos derived from quiescent and non-quiescent adult ear fibroblasts after different activation treatments. Proceeding of Annual Meeting of the International Embryo Transfer Society Conference, Masstricht, The Netherlands, 9-11 January, 2000. Published in Theriogenology 53: 239.

Parnpai, R., Tasripoo, K. and Kamonpatana, M. 2000. Comparison of cloning swamp buffalo embryos using fetal fibroblasts and granulosa cells as donor cells. Proceeding of the 14th International Congress on Animal Reproduction. Stockholm, Sweden, 2-6 July 2000, Abstracts Volume 2: 241.

Parnpai, R., Chuangsoongneon, U. and Kamonpatana, M. 1991. Assessment of optimum time for acrosome reaction in swamp buffalo frozen semen. Proceeding of the 3rd World Buffalo Congress, Varna, 17-19 May, 1991.

Parnpai, R. and Kamonpatana, M. 1990. Swamp buffalo oocyte maturation in vitro: The optimum assessment using 199 media supplement with FSH, 17β-estradiol, fetal calf serum and oestrus cow serum. Proceeding of the 5th AAAP Animal Science Congress, Taipei, Taiwan, 27May -1 June, Vol. III, p. 223.

Parnpai, R., Sophon, S. and Kamonpatana, M. 1987. Short period storage of mouse embryo. Proceeding of the 4th AAAP Animal Science Congress, Hamilton, New Zealand, 1-6 February, 1987, p. 261.

Parnpai, R., Intarachote, P., Sophon, S., Wattanodorn, P., Kurdchuchurn, P., Tantrakul, S., Suwankumjaya, T., Srisakwatana, K. and Kamonpatana, M. 1986. Embryo transfer of dairy crossbred cows in tropical

environment. Paper Presented to International Symposium on Modern Advance in Animal Reproduction, Bangkok, 20-23October, 1986.

Parnpai, R. and Kamonpatana, K. 1989. Optimization of culture media supplement with FSH, 17β -estradiol, fetal calf serum and oestrus cow serum in vitro oocyte maturation of swamp buffaloes. Proceeding of the 1st Symposium on Ruminant Reproduction and Parasitology, Chiangmai, 27-29November, 1989, p. IV-3.

Prongcharoen, M., Chewataworn, S., Chumrasboon, C., Parnpai, R., and Kamonpatana, M. 1989. Surgical embryo transfer in goat: Effect of breeds on superovulatory response. Proceeding of the 1st Symposium on Ruminant Reproduction and Parasitology, Chiangmai, 27-29 November, 1989, p. V-4.

Sridech, P., Suwankumjaya, T., Parnpai, R., Meebumroong, K., Intarachote, P. and Kamonpatana, M. 1989. Reciprocal embryo transfer between beef and dairy cattle: Using beef cattle as donor and dairy cattle as recipient. Proceeding of the 1st Symposium on Ruminant Reproduction and Parasitology, Chiangmai, 27-29 November, 1989, p. V-3.

7.4. นำเสนอในการประชุมระดับชาติ

Srirattana K., Imsoonthornruksa S., Laowtammathron C., Lorthongpanich C., Sripunya N., Phewsoi W., Keawmungkun K., Devahudi R., Sangmalee A., Tunwattana W., Somsa W., Ketudat-Cairns M. and Parnpai R. 2009. Effect of Trichostatin A on developmental potential of cloned cattle embryos and inter-species cloned gaur embryos. Proceeding of the 47th Kasetsart University Annual Conference, 18-20 March 2009, Bangkok, Thailand. 10-16.

Laowtammathron C., Srirattana K., Sangmalee A., Imsoonthornruksa S., Lorthongpanich C., Sripunya N., Phewsoi W., Keawmungkun K., Davahudee R., Thongprapai T. Chaimongkol C., Ketudat-Cairns M. and Parnpai R. 2009. Birth of cloned calves after transferred frozen embryos using drop vitrified technique. Proceeding of the 47th Kasetsart University Annual Conference, 18-20 March 2009, Bangkok, Thailand. 99-105.

Liang Y.Y., Sangmalee A., Imsoonthornruksa S., Lorthongpanich C., Srirattana K., Sripunya N., Phewsoi W., Keawmungkun K., Laowtammathron C., Ye D.N., Ketudat-Cairns M. and Parnpai R. 2009. Effect of chemical activation treatments on the development of swamp buffalo (Bubalus bubalis) follicular oocytes following intracytoplasmic sperm injection. Proceeding of the 47th Kasetsart University Annual Conference, 18-20 March 2009, Bangkok, Thailand. 78-86.

Sangmalee A., Imsoonthornruksa S., Lorthongpanich C., Srirattana K., Sripunya N., Phewsoi W., Keawmungkun K., Laowtammathron C., Davahudee R., Ketudat-Cairns M. and Parnpai R. 2009.

Effect of donor cell source on development and quality of somatic cell nuclear transfer embryos in cattle. Proceeding of the 47th Kasetsart University Annual Conference, 18-20 March 2009, Bangkok, Thailand. 87-94.

Imsoonthornruksa S., Lorthongpanich C., Sangmalee A., Srirattana K., Laowtammathron C., Ketudat-Cairns M. and Parnpai R. 2008. Expression of nuclear reprogramming genes in cloned endangered felid embryos. Proceeding of the 20th Annual Meeting and International Conference of the Thai Society for Biotechnology, 14-17 October 2008. Mahasarakhum , Thailand. p. 292-297.

Thumanu K., Tanthanuch W., Lorthongpanich C. and Parnpai R. 2008. Comparison between synchrotron infrared microspectroscopic mappings and focal plane array imaging of mouse blastocyst. Proceeding of the 20th Annual Meeting and International Conference of the Thai Society for Biotechnology, 14-17 October 2008. Mahasarakhum , Thailand. 131.

Rattanasuk S., Parnpai R. and Ketudat-Cairns M. 2008. Comparison of primers used for bovine sex determination. Proceeding of the 20th Annual Meeting and International Conference of the Thai Society for Biotechnology, 14-17 October 2008. Mahasarakhum , Thailand. 184.

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

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

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

อนวัช แสงมาลี สุเมธ อิ่มสุนทรรักษา จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ กนกวรรณ ศรีรัตนา นุชจรินทร์ ศรีปัญญา วันวิสาข์ ผิวสร้อย ขวัญฤดี แก้วมุงคุณ ชุติ เหล่าธรรมธร ฤทธิ์วิณห์ เทวาหุดี มารินา เกตุทัต-คาร์นส์ และ รังสรรค์ พาลพ่าย. 2551. ลูกแมวบ้านโคลนนิ่งเกิดจากการทำย้ายฝากนิวเคลียสของเซลล์ร่างกาย.

เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. สาขาสัตว์. กรุงเทพฯ, หน้า 85-90.

Imsoonthornruksa, S., Lorthongpanich, C., Sangmalee, A., Srirattana, K., Sripunya, N., Keawmungkun, K., Wanwisa, P., Laowtammathron, C., Tunwattana, W., Somsa, W., Kongkham, W., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. 2008. Oct4 expression in cloned embryo of endangered feline family. Proceeding of the 4th Symphosium on Thermotolerance in Domestic Animals, 31 January 2008. Khon Kaen, Thailand. p. 344-348.

Laowtammathron, C., Srirattana, K., Lorthongpanich, C., Imsoonthornruksa, S., Sripunya, N., Phewsoi, W., Keawmungkun, K., Davahudee, R., Sangmalee, A., Thongprapai, T., Chaimongkol, C., Ketudat-Cairns, M., and Parnpai, R. 2008. Evaluation of activation treatments of bovine oocyte after intracytoplasmic sperm injection. Proceeding of the 4th Symphosium on Thermotolerance in Domestic Animals, 31 January 2008, Khon Kaen, Thailand, p. 349-352.

Lorthongpanich, C., Yang, S.H., Piotrowska-Nitsche, K., Chan, A.W.S. and Parnpai, P. 2008. Supplemented compound enhances success rate of ES cell establishment from single blastomere. Proceeding of the 4th Symphosium on Thermotolerance in Domestic Animals, 31 January 2008. Khon Kaen, Thailand. p. 340-343.

Sangmalee, A., Srirattana, K., Sripunya, N., Phewsoi, W., Keawmungkun, K., Imsoonthornruksa S., Lorthongpanich, C., Laowtammathron, Ketudat-Cairns, M. and Parnpai, R. 2008. Birth of cloned goats by somatic cell nuclear transfer : Possibility of endangered mountain goat conservation. Proceeding of the 4th Symphosium on Thermotolerance in Domestic Animals, 31 January 2008. Khon Kaen, Thailand. p. 332-335.

Srirattana, K., Imsoonthornruksa S., Tunwattana, W., Lorthongpanich, C., Laowtammathron, C., Sripunya, Keawmungkun, K., Wanwisa, P., Ketudat-Cairns, M. and Parnpai, R. 2008. Development and telomerase activity of gaur embryos derived from inter–species somatic cell nuclear transfer. Proceeding of the 4th Symphosium on Thermotolerance in Domestic Animals, 31 January 2008. Khon Kaen, Thailand. p. 336-339.

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

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

Laowtammathron, C., Lorthongpanich, C., Imsoontronruksa, S., Srirattana, K., Sangsritavong, S., Ketudat-Cairns, M. and Parnpai, R. 2006. Production of sexed bovine embryos by in vitro fertilization. การประชุม RGJ seminar series XLVII "Reproductive Biotechnology for Improving Animal Breeding Strategies". 20 ตุลาคม 2549 ณ จังหวัดน่าน หน้า 7

Imsoontronruksa, S., Lorthongpanich, C., Srirattana, K., Sripunya, N., Laowtammathron, C., Ketudat-Cairns, M. and Parnpai, R. 2006. Effect of hatching stage on cryosurvival of cloned domestic cat blastocyst after vitrification. การประชุม RGJ seminar series XLVII "Reproductive Biotechnology for Improving Animal Breeding Strategies". 20 ตุลาคม 2549 ณ จังหวัดน่าน หน้า 59.

Srirattana, K., Lorthongpanich, C., Imsoontronruksa, S., Sripunya, N., Thangthai, C., Laowtammathron, C., Ketudat-Cairns, M. and Parnpai, R. 2006. Effect of donor cell types on development of cloned swamp buffalo (Bubalus bubalis) embryos. การประชุม RGJ seminar series XLVII "Reproductive Biotechnology for Improving Animal Breeding Strategies". 20 ตุลาคม 2549 ณ จังหวัดน่าน หน้า 47-48.

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

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

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

การใช้โอโอไซท์แช่แข็งด้วยวิธี Vitrification. เรื่องเต็มการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43. สาขาสัตว์. กรุงเทพฯ, หน้า 59-66.

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

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

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

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

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

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

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

โอโอไซท์แช่แข็งด้วยวิธี Vitrification. บทคัดย่อผลงานวิจัยการสัมมนาเรื่องกลุ่มงานวิจัยในภาคีอุดมศึกษานครราชสีมา ปี 2547. หน้า 26.

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

จันทร์เจ้า ล้อทองพานิชย์ ชุติ เหล่าธรรมธร สุจิตรา หมื่นไธสง และ รังสรรค์ พาลพ่าย. 2546. การทดสอบค่ากระแสไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการทำโคลนนิ่งตัวอ่อนแมว โดยใช้เซลล์ไฟโบรบลาส จากใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ. เรื่องเต็มการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 สาขาวิทยาศาสตร์ กรุงเทพฯ, หน้า 84-88.

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

รังสรรค์ พาลพ่าย เกรียงศักดิ์ ทาศรีภู และ มณีวรรณ กมลพัฒนะ. 2543. การโคลนนิ่งตัวอ่อนกระบือปลักโดยใช้เซลล์ไฟโบรบลาสจากลูกอ่อนเป็นเซลล์ต้นแบบ. เรื่องเต็มการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38 สาขาสัตว์. กรุงเทพฯ, หน้า 86-89.

รังสรรค์ พาลพ่าย เกรียงศักดิ์ ทาศรีภู และ มณีวรรณ กมลพัฒนะ. 2543. ความเป็นไปได้ในการผลิตโคพันธุ์ดีด้วยเทคโนโลยีโคลนนิ่งโดยใช้เซลล์ไฟโบรบลาสจากใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ. เรื่องเต็มการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38. สาขาสัตว์. กรุงเทพฯ, หน้า 79-85.

8. การเขียนตำรา-หนังสือ

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

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

รังสรรค์ พาลพ่าย สรรเพชญ โสภณ มณีวรรณ กมลพัฒนะ กำธร มีบำรุง กิติยา ศรีศักดิ์วัฒนะ ประชุม อินทรโชติ ธวัชชัย สุวรรณกำจาย ประภากร วัฒโนดร พฤฒิ เกิดชูชื่น และ สมสวัสดิ์ ตันตระกูล. 2530. ผลสำเร็จการย้ายฝากตัวอ่อนโคนมลูกผสมในประเทศไทย. มณีวรรณ กมลพัฒนะ (บรรณาธิการ),

การปฏิสนธิในหลอดแก้วและการย้ายฝากตัวอ่อน โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, หน้า 273-288.

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

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

9. รางวัลที่ได้รับ

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

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

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

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

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

9.6. รางวัลบุคลากรสายวิชาการที่มีผลงานดีเด่นด้านการวิจัย ประจำปี 2548 จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

9.7. รางวัลแทนคุณแผ่นดิน สาขาวิทยาศาสตร์ ประจำปี 2550 จากเครือเดอะเนชั่น

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

10. การจดสิทธิบัติ

10.1. รังสรรค์ พาลพ่าย วิศิษฐิพร สุขสมบัติ อาวุธ อินทรชื่น อุดมวิทย์ มณีวรรณ คมสัน ภายยเดช แสงเพ็ชร งอนชัยภูมิ ป้องภัยรี มีสมบัติ สมิง เติมพรมราช "อุปกรณ์ควบคุมการเคลื่อนที่ก้านสูบของไมโครไซริงท์" ยื่นคำขอเมื่อวันที่ 11 มิถุนายน 2547 ได้รับสิทธิบัติเมื่อเดือน เมษายน 2550

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

ประวัติผู้วิจัย

รศ.น.พ. สุพัชญ์ สืนะวัฒน์

ชื่อ ภาษาไทย นาย สุพัชญ์ สืนะวัฒน์
ภาษาอังกฤษ Mr. Supat Sinawat

Address Department of Physiology
Faculty of Medicine
Khon Kaen University
Khon Kaen, 40002, Thailand
Tel : 043 363263, (081) 8713781
Fax: 043 348394
e-mail : sisupat@kku.ac.th

Date of Birth 2 January 1969

Nationality Thai

Education and Training

Thai Medical Council

2005 Dip. Thai Sub-Board in Reproductive Medicine

2003 Dip. Thai Board in Family Medicine

Aichi Cancer Center Research Institute, Japan

2002 Certificate in Cancer Epidemiology & Prevention

Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA

2000 Visiting Fellow in Reproductive Genetics

Chulalongkorn University, Thailand

1999 Certificate in Medical Administration

The University of Cambridge, UK

1998 Clinical Fellow in Reproductive Medicine

The University of Edinburgh, UK

1997-1998 MSc (with distinction) Reproductive Biology

Khon Kaen University, Thailand

1993-1996 Dip.Thai Board in Obstetrics and Gynecology

Dip.Clinical Sciences (OB&GYN)

1986-1992 MD (Hons)

Work experiences

Member of the Executive Committee of the Faculty of Medicine, Khon Kaen University (2007-present)

Associate Professor in Physiology (2007-present)

Associate Professor in Obstetrics and Gynecology (2005-2007)

Editorial Board of Srinagarind Medical Journal (2003-present)

Assistant Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, KKU (2002-2005)

Assistant Professor in Obstetrics and Gynecology (2001-2005)

Secretary to the Board of Postgraduate Study, Department of OB&GYN, KKU (2002-2005)

Assistant Dean of International Relations, Faculty of Medicine, Khon Kaen University (1999-2001)

Director of the Reproductive Biology unit, Khon Kaen University (1999-present)

Lecturer in Reproductive Medicine (1998-2001)

Lecturer in Obstetrics and Gynecology (1997-2001)

Resident in the Department of Obstetrics and Gynecology, KKU (1993-1996)

I am currently working in the department of Physiology, Khon Kaen University as well as providing medial services in the field of reproductive Medicine including infertility, assisted reproduction and gynecologic endocrinology at Infertility and gynaecologic endocrinology clinic, Srinagarind Hospital, Khon Kaen University. Besides providing medical teaching to both undergraduate and postgraduate students, I also supervise fellows in training for their sub-specialist posts in Reproductive Medicine. As the director of The Reproductive Biology Unit, I involve in several research programs such as the investigations of abnormal

embryo development while being exposed to abnormal in vitro conditions, epidemiology of male and female infertility, and the studies to determine how reproductive cancer could be prevented.

Research Interests

1. Reproductive Sciences
2. Infertility, assisted conception and gynecologic endocrinology
3. Medical Physiology
4. Cancer prevention

Memberships& Fellowships

Thai Medical Association

The Royal Thai College of Obstetricians and Gynecologists

Thai College of Family Physicians

Assisted Reproduction Society of Thailand

Genetic Society of Thailand

Menopause-Andropause Society of Thailand

International Federation of Obstetricians and Gynecologists (FIGO)

International College of Surgeons

Awards and Scholarships

AFS Scholarship (1985-1986): awarded by the American Field Service Foundation (AFS) to serve as an exchange high school student to York School, California, USA.

Certificate of Excellency (1987-1992): awarded by the Faculty of Medicine, Khon Kaen University, as the medical student who obtained the highest scores in Physiology, Community Medicine, Obstetrics and Gynecology, Surgery as well as Medical Ethics.

Thai Government Scholarship (1997-1998): awarded to further postgraduate study and sub-specialist training in Reproductive Medicine at University of Edinburgh and Cambridge University, United Kingdom.

FIGO International Fellowship Award (2000): jointly awarded by The International Federation of Obstetricians and Gynecologists (FIGO) and American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) to serve as a visiting fellow in Reproductive Genetics at Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA..

Oral Communication Finalist : awarded by scientific program committee of the 17th World Congress on Fertility and Sterility (IFFS 2001) held in Melbourne, Australia in November 2001.

JICA scholarship (2002): awarded by Japan Government to further the study in the area of cancer prevention and cancer epidemiology at Aichi cancer centre, Japan.

Thailand Research Fund (2006-2007): awarded to conduct Cochrane systematic review in the field of reproductive medicine.

International presentations

1.Sinawat S. Gynecologist's reponsibility to patients on tamoxifen presented as an invited speaker in XVII Asia and Oceanic Congress of Obstetrics and Gynecology held in Singapore from 9-14 July 2000.

2.Sinawat S Congenital malformation arising as a result of preimplantation of mouse embryos to ammonium chloride presented as an oral presentation in the FIGO World Congress 2000 held in Washington DC, USA.

3.Seejorn K, Sinawa S. Success rate of female sterilization reversal in Srinagarind hospital presented as poster presentation in the FIGO World Congress 2000 held in Washington DC, USA.

4.Sinawat S., West JD. Large fetuses and impaired implantation potential occurring as the results of preimplantation exposure to ammonium chloride presented as an oral presentation in the 17th world Congress on Fertility and Sterility held in Melbourne, Australia between 25-30 November 2001.

5. Sinawat S., Wei-Chih Hsio, Flockhart JH, Kaufman MH, Keith J, West JD. Abnormal mouse fetuses after preimplantation exposure to ammonium chloride. presented as poster presentation in Fertility 2003, Aberdeen, UK (July 2003).

6.Sinawat S, Chiyabutra T, Kleabkaew P. Endometrial cancer surveillance in postmenopausal breast cancer patients taking tamoxifen. Presented as poster presentation in the 2nd Regional Asia Pacific Organization for Cancer Prevention (APOCP) held at Khon Kaen, Thailand between 9-11 February 2004.

7.Sakondhavat C, Sinawat S. Best practice of Adolescent reproductive health and HIV/AIDS in Khon Kaen. Presented as invited speakers in the 2005 first workshop on Adolescent Reproductive Health and HIV/AIDS of the Asian Urban Information Center of Kobe (AUICK) organized at Kobe, Japan between 27 June to 5 July 2005.

Publications

1. Sinawat S, Komwilaisak R, Ratanasiri T. Fetal diagnosis of duodenal obstruction by ultrasound : a case report. Srinagarind Med J 1998; 13(3): 178-81.
2. Sinawat S, Seejorn K. Management guideline for infertility in Srinagarind hospital. Srinagarind Med J 1999; 14(suppl): 205-10.
3. Sinawat S. Alcohol and male infertility. Srinagarind Med J 2000; 15(1): 2.
4. Sinawat S. Egg and ovarian tissue donation : The door for progress in infertility treatment. Thai J Obstet Gynecol 2000; 12(1): 3-6.
5. Sinawat S. Infertility. J Dent Nurse 2000; 12(2): 41-2.
6. Sinawat S. Gynecologist's responsibility to patients on Tamoxifen. J Obstet Gynecol Res 2000; 26(suppl 1): 78.
7. Sinawat S. Prevention of infertility. Srinagarind Med J 2000; 15(2): 105-11.
8. Sinawat S. Cloning/Nuclear transfer: novel biotechnology for the year 2000. Srinagarind Med J 2000; 15(2): 102-4.
9. Sinawat S, Seejorn K, Pothanan K. Assisted Reproductive Technology. Srinagarind Med J 2000; 15(3): 172-83.
10. Sinawat S, Seejorn K. Impaired implantation potential, a dose-dependent effect of preimplantation exposure to ammonium chloride. Srinagarind Med J 2000; 15(3):

11. Sinawat S, Seejorn K, Pongsritasana T, Sridongyang N. Male factor infertility in Srinagarind hospital. Srinagarind Med J 2000; 15(2):87-90.
12. Sinawat S, Seejorn K. Large offspring arising as a result of preimplantation exposure of mouse embryos to ammonium chloride. Thai J Obstet gynecol 2000;12(1):3-6.
13. Sinawat S. The environmental impact on male fertility. J Med Assoc Thai 2000; 83: 880-5.
14. Sinawat S. Congenital malformation arising as a result of preimplantation exposure of mouse embryos to ammonium chloride. Int J Obstet Gynecol 2000; 70(suppl 1):45.
15. Chaiyabut T, Sinawat S, Kleabkaew P. The incidence of endometrial thickening and pathologies in asymptomatic postmenopausal breast cancer patients. Srinagarind Med J 2000; 15(suppl): 139.
16. Seejorn K, Songthamwattana M, Thailert S, Sinawat S. Reversal of sterilization by microsurgery in Srinagarind hospital. Int J Obstet Gynecol 2000; 70(suppl2): 56.
17. Sinawat S. Caffeine consumption in pregnant women. J Dent Nurse 2000;12(3):16-9.
18. Sinawat S. Tubal infertility. Srinagarind Med J 2001; 16(2): 126-33.
19. Sinawat S. Hysteroscopy. Srinagarind Med J 2001; 16(2): 134-8.
20. Sinawat S. Role of androgenic steroid and inhibin in control of follicular development and ovulation. Srinagarind Med J 2001; 16(2): 119-22.
21. Sinawat S. Fetal exencephaly arising as a result of preimplantation exposure to ammonium chloride. J Med Assoc Thai 2001; 84(6): 821-30.
22. Sinawat S. Unexplained Infertility. Srinagarind Med J 2001; 16(3): 200-10.
23. Sinawat S.Effects of caffeine on reproductive function. Srinagarind Med J 2001; 16(3): 21-6.
24. Sinawat S,Chiyabutra T, Kleabkaew P. Detection of endometrial cancer in asymptomatic postmenopausal breast cancer patient treated with Tamoxifen: a case report. J Med Assoc Thai 2001; 84(7): 1033-6.
25. Sinawat S.Contraceptive Vaccine:New hope for the overcrowded world?. J Med Assoc Thai 2001; 84(9): 1336-9.
26. Sinawat S, Seejorn K, Pothanan K. Assisted reproductive technology. Sinagarind Med J 2002; 17(1)26-37.
27. Sinawat S.Total versus subtotal hysterectomy: Risks and benefits. Sinagarind Med J 2002; 17(1): 38-41.
28. Sinawat S. Mechanism of menstruation. Sinagarind Med J 2002; 17(20): 105-12.
29. Sinawat S. Primary Amenorrhea. Srinagarind Med J 2002; 17(2): 113-27.
30. Seejorn K, Songthamwattana M, Thailert S, Sinawat S. Reversal of sterilization by microsurgery in Srinagarind hospital. Srinagarind Med J 2002; 17(2): 85-8.

31. Sinawat S. Prevention of endometrial cancer in breast cancer patients taking tamoxifen: the gynecologists' role. Asian Pacific J Cancer Prev 2002; 3: 251-5.
32. Sinawat S. Physiologic changes in aging males. Srinagarind Med J 2002; 17(suppl): 3-8.
33. Pattamadilok J, Sinawat S. Prevelence of tubal infertility in Srinagarind hospital. Srinagarind Med J 2002; 17(suppl):226
34. Sinawat S. Implantation: insight into the effects of cytokines and growth factor. Srinagarind Med j 2002; 17(4): 265-7.
35. Sinawat S., Seejorn K. Pseudo-Meigs' syndrome secondary to subserous myoma uteri: a case report. J Med Assoc Thai 2002; 85(11): 1240-3.
36. Sinawat S. Prevention of infertility. In: Seejorn K, Prasertcharoensuk W, Yeonyow P, Kaewrudee S. Obstetrics &Gynecology for family physicians. Khon Kaen:Khon Kaen university press, 2002: 103-11.
37. Sinawat S. Premature ovarian failure. Srinagarind MedJ 2002; 17(3): 199-205.
38. Sinawat S. How can we prevent cancer?. Srinagarind Med J 2003; 18(1):38-42.
39. Sinawat S. Reproductive Physiology. In:Werawattanatrakul Y, Kleabkeaw P, Buppasiri P, Yeunyaw P, Keawrudee S, editors. Gynecology. Khon Kaen: Khon Kaen University Press, 2003: 31-54.
40. Sinawat S., Hsaio WH, Flockhart JH, Kaufman MH, Keith J, West JD. Fetal abnormalities produced after preimplantation exposure of mouse embryos to ammonium chloride. Hum Reprod 2003; 18(10): 2157-65.
41. Sinawat S, Chiyabutra T, Kleabkaew P. Surveillance for endometrial cancer in postmenopausal breast cancer patients taking tamoxifen. Asian Pacific J Cancer Prev 2003; 4:327-30.
42. Sinawat S, Chiyabutra T. Abnormally thickened endometrium in postmenopausal breast cancer patients. Srinagarind Med J 2004; 19(1): 2-6.
43. Sinawat S. Anovulatory infertility. Srinagarind Med J 2004; 19(1): 31-6.
44. Sinawat S. Polycystic ovary syndrome: The genetic aspect. Srinagarind Med J 2004; 19(1): 42-4.
45. Sinawat S, Chiyabutra T. Increased risk of endometrial abnormalities in breast cancer patients taking tamoxifen: The need for gynaecologic surveillance. Asian Pacific J Cancer Prev 2004; 5: 183-7.
46. Sinawat S, Chiyabutra T, Kleabkaew P. Endometrial abnormalities in postmenopausal breast cancer patients. J Med Assoc Thai 2004; 87(6):636-40.
47. Sinawat S. Infertility practice in post-genomic era. In: Kaewrudee S, Kleabkaew P, Ratanasiri T, Pengsa P, editors. Update in OB-GYN. Khon Kaen: Khon Kaen University press, 2004: 201-4.
48. Sinawat S, Pattamadilok J, Seejorn K. Tubal infertility in Srinagarind hospital. Srinagarind Med J 2004; 19(3): 131-5.

49. Sinawat S, Srisuporngornkul A. Molar pregnancy in Srinagarind hospital. Srinagarind Med J 2004; 19(3): 136-40.
50. Sinawat S. Male infertility. Srinagarind Med J 2004; 19(3):172-9.
51. Sinawat S. Endometrial thickening in postmenopausal breast cancer patients taking tamoxifen: A cross-sectional study. J Med Assoc Thai 2004; 87:S59-63.
52. Punyatrong K, Sinawat S, Seejorn K. Success rate of intrauterine insemination (IUI) in Srinagarind hospital. J Med Assoc Thai 2004; 87:S242.
53. Sinawat S, Pattamadilok J, Seejorn K. Tubal abnormalities in Thai infertile females. J Med Assoc Thai 2005; 88:723-7.
54. Pongsritasana T, Seejorn K, Sinawat S, Kukiatkool P, Tharnprisan P, Ngoksin U, Tongpha S. In vitro fertilization of human oocytes in Srinagarind Hospital. Srinagarind Med J 2006; 21(3): 220-7.
55. Sinawat S. Human embryonic stem cells and their potential applications. Srinagarind Med J 2007; 22(1): 74-81.
56. Sinawat S. Potential applications of human embryonic stem cells. J Med Assoc Thai 2007; 90(6):1253-8.
57. Sinawat S, Buppasiri P, Lumbiganon P. Pattanittum P. Long versus short course treatment with metformin and clomiphene citrate for ovulation induction in women with PCOS. Cochrane Database Syst Rev 2008 Jan 23(1): CD 006226.
58. Auvichayapat P, Prapachanung M, Tunkamnerdthai O, Sripanidkulchai BO, Auvitchayapat N, ThinkhamropB, Kunhasura S, Wongpratoom S, Sinawat S, Hongprapas P. Effectiveness of green tea on weight reduction in obese Thais: A randomized controlled trial. Physiol Behav 2008 Feb 27; 93(3): 486-91.