

การศึกษา growth factor (ปัจจัยการเจริญ) ที่มีผลต่อการได้มาของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนหนู มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบ growth factor ที่มีผลต่อการได้มาของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนหนู โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 การทดลอง (1) การเปรียบเทียบผลของการใช้ growth factor ตัวเดียว (LIF, PD98059, BIO) พบว่าการใช้ LIF เป็น growth factor ได้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนหนู 6.21% ส่วนการใช้ PD98059 และ BIO ไม่ได้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนหนู (2) การเปรียบเทียบผลของการใช้ growth factor ตัวเดียวกับการใช้ growth factor หลายตัว (LIF+PD98059+BIO) พบว่าการใช้ growth factor หลายตัวได้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนหนู 31.29% มากกว่าการใช้ LIF (6.21%) เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (3) นำผลที่ได้จากการทดลองที่ 1 และ 2 มาหาสูตรการใช้ growth factor ที่ได้ผลดีที่สุด พบว่าการใช้ growth factor หลายตัวในช่วงที่ 1 ร่วมกับการใช้ LIF ในช่วงที่ 2 ของการทดลอง ได้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนหนู 31.58% และผลที่ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้ growth factor หลายตัวทั้ง 2 ช่วงของการทดลอง (31.29%) (4) นำผลที่ได้จากการทดลองที่ 3 มาศึกษาผลของช่วงเวลาที่ใช้ growth factor ที่มีต่อผลสำเร็จสูงสุด พบว่าการใช้ growth factor หลายตัวในช่วงที่ 1 ร่วมกับการใช้ LIF ในช่วงที่ 2 ของการทดลอง ได้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนหนูสูงที่สุด (31.58%) มากกว่าการใช้ LIF ทั้ง 2 ช่วงของการทดลอง (6.21%) และมากกว่าการใช้ LIF ในช่วงที่ 1 ร่วมกับการใช้ growth factor หลายตัวในช่วงที่ 2 ของการทดลอง (6.25%) และเมื่อนำ outgrowth ที่ได้จากการใช้ growth factor หลายตัวมาตรวจสอบด้วย AP (alkaline phosphatase) และตรวจสอบด้วย molecular marker Oct 4 พบว่ามีเม็ดสีม่วงเข้มของ AP มากกว่า และมีการติดสีของ Oct4 เป็นบริเวณกว้างกว่าและเข้มกว่า outgrowth ที่ได้จากการใช้ LIF เพียงอย่างเดียว

สรุปการใช้ growth factor หลายตัว โดยเฉพาะเมื่อใช้ในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนในระยะ blastocyst ไปจนถึงระยะ outgrowth มีความสำคัญมากในการเพิ่มประสิทธิภาพการได้มาของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนหนู

The objective of this study is to compare the efficiency of growth factor(s) on the derivation of mouse embryonic stem cells (mES). Four experiments were carried out: (1) for the effect of single growth factor(LIF, PD98059, BIO) individually on derivation of mES as calculated per number of blastocysts being cultured from the beginning of the experiments; it was found that LIF gave the highest number of mES (6.21%) while the others gave nil; (2) as comparing with single growth factor (LIF), multiple ones (LIF+PD98059+BIO) gave much significantly higher number of mES (31.29% vs. 6.21%); (3) from the results of the first two experiments, the best formula of growth factors was designed and tested, and it showed that culturing of blastocysts with multiple growth factors (LIF+PD98059+BIO) for the whole period (two stages) of culturing time gave comparable result to those using multiple growth factors during the first stage and only single growth factor (LIF) for the second stage (31.29% vs. 31.58% respectively); (4) the effect of growth factors regarding the stage of culture (first or second one) was experimentally tested and it finally confirmed that the best result was obtained when multiple growth factors (LIF+PD98059+BIO) was used during the first stage of the culture and single growth factor (LIF) for the second one (31.58%) while the reverse order culture (6.25%) and both-stage LIF only (6.21%) gave significantly much lower mES. To explore further into the mechanism of those impressive results, the quality of the outgrowth masses obtained from the first-stage culture was studied. Following alkaline-phosphatase and Oct-4 staining, which represent pluripotency state of mES, they clearly showed that those outgrowths culturing in multiple growth factors stained much stronger and in higher proportion than those obtained from LIF-only culture.

In conclusion, multiple growth factors (LIF+PD98059+BIO) give higher rates of mES-derivation as comparing with single factor (LIF), particularly during the first stage of blastocyst culture.