

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG6180020

ชื่อโครงการ: การสร้างเซลล์ไลน์ชนิดเซอโทลีเซลล์และการเปลี่ยนแปลงให้เป็นเซลล์ต้นกำเนิดชนิดพหุโพแทสเซียมในแมวบ้าน

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน: ดร.น.สพ. ณรงค์ ทิพนววัฒน์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

อีเมล: Tiptanavattana.n@gmail.com, Narong.ti@psu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: พฤษภาคม พ.ศ. 2561 ถึง เมษายน พ.ศ. 2562

### บทคัดย่อ:

เซลล์เซอโทลีเป็นเซลล์พุงและคำจุนในท่อสร้างอสุจิและความสัมพันธ์กับเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ในทุกระยะทั้งในด้านการกายวิภาคและสรีรวิทยา เซลล์เซอโทลีทำหน้าที่สำคัญที่คอยทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการเพิ่มจำนวนของกระบวนการสร้างอสุจิ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษถึงหน้าที่ของเซลล์ไลน์ของเซลล์เซอโทลีที่จากอวัยวะแมวบ้านเพื่อเปรียบเทียบกัน อวัยวะที่ใช้ในการศึกษาได้มาจากแมวที่มาจากบ้านตามปกติ จากนั้นทำการลอกเปลือกและเยื่อหุ้มอวัยวะออก และทำการตัดย่อยเพื่อให้ได้เซลล์อวัยวะเดี่ยวด้วยวิธี modified 2-step enzymatic digestion ในอวัยวะที่ได้จากแมวก่อนเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์จะได้รับการกระตุ้นด้วยวิธีการอดอาหาร (starvation technique) และในแมวหลังวัยเจริญพันธุ์จะใช้วิธีการใส่สารพันธุกรรมที่ต้องการเพื่อเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์ไลน์ เซลล์ไลน์ของเซลล์เซอโทลีที่ได้จะได้รับการศึกษารูปร่างและลักษณะ รวมถึงการตรวจคุณสมบัติด้วยการย้อมสีโปรตีนไวเมนติน (vimentin) การแสดงออกของยีนที่สำคัญด้วยเทคนิค RT-PCR และตรวจสอบการทำงาน ผลการศึกษาพบว่า เซลล์ไลน์ทั้งหมดที่ได้แสดงรูปร่างที่จำเพาะกับเซลล์เซอโทลีโดยพบลักษณะเป็นกระสวย มีนิวเคลียสที่ชัดเจน และมีกลุ่มไขมันสะสมในส่วนของไซโตพลาสซึม และมีการแสดงออกเป็นบวกของโปรตีนไวเมนติน ผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีนได้ผลคือมีการแสดงออกของยีน *Vimentin*, *CLU*, *OCLN* และ *FSHR* โดยไม่พบการแสดงออกของยีน *LHR*, *HSD3B* และ *DDX4* การตรวจสอบการทำงานพบว่ามีกระบวนการเก็บกินเซลล์ (phagocytic activity) ที่ชัดเจน อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเปรียบเทียบเซลล์ไลน์ที่ passage ที่ 1, 4, 23, และ 50 พบว่า มีการแสดงออกของยีน *GDNF*, *AR*, *LIF*, *EGF*, *FGF2* และ *KITLG* ซึ่งถือเป็นยีนสำคัญที่แสดงออกถึงการผลิตสารสำคัญของเซลล์เซอโทลี การตรวจสอบการทำงานในแง่ของการผลิตฮอร์โมนพบว่าเซลล์สามารถสร้างฮอร์โมนเอสตราไดโอลได้ เพื่อทำการกระตุ้นด้วยการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน งานวิจัยนี้สรุปได้ว่า เซลล์ไลน์ที่ได้แสดงคุณสมบัติทางกายวิภาค สรีรวิทยา และการแสดงออกในระดับโมเลกุลของเซลล์เซอโทลีได้อย่างครบถ้วน ซึ่งทำให้เซลล์ไลน์ที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการศึกษาในระดับลึกต่อไป

คำหลัก : แมว เซลล์เซอโทลี เซลล์ไลน์

## Abstract

---

**Project Code :** MRG6180020

**Project Title :** Immortalization of Sertoli cells and establishment of Sertoli-derived induced pluripotent stem cells in cat (*Felis catus*)

**Investigator :** Dr. Narong Tiptanavattana (Faculty of veterinary science, Prince of Songkla University)

**E-mail Address :** Tiptanavattana.n@gmail.com, Narong.ti@psu.ac.th

**Project Period :** May, 2018 – April, 2019

### **Abstract:**

Sertoli cell is a supporting cell type which located in the seminiferous tubule and interacts with the all types of male germ cells via anatomy and physiology. They plays a crucial role in the regulation of proliferation phase of spermatogenesis. Therefore, the objective of this study would like to focus at the function of Sertoli cell line derived from cat. The testes from a castrated cat (4 month of age) were decapsulated and dissociated for single cell isolation by modified 2-step enzymatic digestion. The Sertoli cell were purified and enriched by modified starvation technique and continuously passaged to passage 50<sup>th</sup>. The cell line was characterized by morphology, immunofluorescence of anti-rat vimentin expression and related genes with RT-PCR and its functions. The Sertoli cell line has the distinct spindle morphology as previous study with prominent nucleoli and fat droplets in cytosol. Moreover, the cells presented vimentin in the cytoplasm and also expressed the mRNA of *Vimentin*, *CLU*, *OCN* and *FSHR* without the mRNA of *LHR*, *HSD3B* and *DDX4* expressions. For the functional activity of Sertoli cell line, the numerous of fluorescent beads were engulfed by immortalized Sertoli cells that indicated the high phagocytic activity of theirs. The Sertoli cell line at Passage 1<sup>st</sup>, 4<sup>th</sup>, 23<sup>rd</sup> and 50<sup>th</sup> also expressed mRNA of *GDNF*, *AR*, *LIF*, *EGF*, *FGF2* and *KITLG* genes as the Sertoli-produced important factors. To detection the level of estrogen production, the cat Sertoli cells produced the oestradiol level to 1.49 pg/ml after challenge with progesterone. In conclusion, this study demonstrated that the Sertoli cell line from cat at G/SSC age present the morphological and functional of true Sertoli cells and they have the ability to secrete the vital factors (e.g. GDNF, FGF2, LIF, EGF) for SSC maintenance. Therefore, our Sertoli cell line would be have advantageous useful for cat SSC culture or in-depth study of spermatogenesis.

**Keywords :** Cat, Sertoli cell, Cell line