บทคัดย่อ

โครการวิจัยเรื่อง “การนำไปสู่พลูริโพเท็นซี่ของเซลล์ต้นกำเนิดในแมวเพื่อใช้เป็นต้นแบบในงานวิจัยชีวภาพการแพทย์และการอนุรักษ์พันธุกรรม” เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีชีวภาพหลายชนิด เช่น การแช่แข็ง การผลิตตัวอ่อนภายนอกร่างกาย การถ่ายยีน และ เทคโนโลยีเซลล์ต้นกำเนิด การศึกษาครั้งนี้ใช้แมวบ้านเป็นสัตว์ต้นแบบ เนื่องจากสามารถใช้เทคโนโลยีในการพัฒนาเพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรม และรวมถึงการศึกษาเพื่อพัฒนาทางการแพทย์ การศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมฮอร์โมน ฟอลิเคิล สติมูเลติ่ง และโกรทแฟคเตอร์ ในช่วงการเลี้ยงให้ผลเพิ่มประสิทธิภาพในการเลี้ยงโอโอไซต์และตัวอ่อน การเสริมสารตัวยับยั้งโรห์ แอสโซซิเอสโปรตีนไคเนส มีผลต่อประสิทธิภาพการแช่แข็งอสุจิ โอโอไซต์ รวมทั้งเพิ่มประสิทธิภาพในการสร้างเซลล์ไลน์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน การศึกษาครั้งนี้พบว่าเซลล์ต้นกำเนิดแมวบ้านต้องการ leukemia inhibitory factor (LIF) และ basic fibroblast growth factor (bFGF) เพื่อควบคุมการเจริญเติบโตและพัฒนาของเซลล์ต้นกำเนิด ในขณะที่เซลล์ต้นกำเนิดอสุจิสามารถเก็บและเลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงได้ แต่ไม่สามารถเลี้ยงในระยะยาวได้ ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการเปลี่ยนเซลล์ไฟโบรบลาสต์ให้เป็นเซลล์ต้นกำเนิดชนิด induced pluripotent stem cells หรือ iPS เซลล์ต้นกำเนิดชนิดนี้มีคุณสมบัติคล้ายเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน การศึกษาโครงการวิจัยระยะเวลา 3 ปี ช่วยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งรวมถึง การแช่แข็งเซลล์สืบพันธุ์ การผลิตตัวอ่อนภายนอกร่างกาย และเทคโนโลยีเซลล์ต้นกำเนิด การพัฒนาต่อยอดโครงการวิจัยจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการอนุรักษ์สายพันธุ์ รวมถึงช่วยพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อพัฒนาการแพทย์ในอนาคต

คำสำคัญ เทคโนโลยีชีวภาพ; แมว; การแช่แข็ง; พลูริโพเท็นซี่; โอโอไซต์; อสุจิ; ตัวอ่อน; เซลล์ต้นกำเนิด

Abstract

The research project entitled “towards pluripotency of stem cells in cat: potential models for biomedical research and genetic conservation” involved several biotechnologies including semen freezing, in vitro embryo production, transgenesis and stem cell technologies. Domestic cat was used as a model for technology development due principle to the versatility of the species that potentially serve for genome conservation and also for biomedical development. Factors contributed to oocyte development and also subsequent embryo development were studied. The results indicated that follicle stimulating hormone and growth factors added during *in vitro* oocyte maturation or during embryo culture improved embryo development. Rho-associated coiled-coil kinase inhibitor (ROCK-inhibitor) significantly increased cell viability and cell functions of feline sperm, oocyte and also embryonic stem cells following cryopreservation or enzymatic treatment. The ROCK inhibitor treatment also 2-fold improved the derivation efficiency of embryonic stem cells. The derived embryonic stem cells were dependent on at least two factors including leukemia inhibitory factor (LIF) and basic fibroblast growth factor (bFGF). Isolation and culture of germ stem cells (spermatogonial stem cells) also successfully performed. However, these cells could not be long-term maintained *in vitro*. Using transgenic technology, fibroblasts could be transformed into pluripotent cells (induced pluripotent stem cells; iPS) using 4 transcription factors (OCT, SOX, cMYC and KLF4). At least 10 iPS cell lines demonstrated the typical iPS morphology and were positive with pluripotent markers. In conclusion, the 3-year project contributed to the improvement of reproductive biotechnologies including cryopreservation, in vitro embryo production and also stem cell technology. Application of these technology would facilitate the genetic conservation and also biomedical research

Keywords: biotechnology; cat; cryopreservation; embryo; pluripotency; oocyte; sperm; stem cells