จิตตนันท์ ศรีสุทัศน์: การตรวจสอบคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอกระยะไพรม์และระยะคล้ายนาอีฟ ของสภาวะพลูริโพเทนซี โดยใช้ Fourier Transform Infrared (FTIR) Microspectroscopy (CHARACTERIZATION OF RHESUS MONKEY EMBRYONIC STEM CELLS IN PRIMED AND NAÏVE-LIKE STATES OF PLURIPOTENCY USING FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR) MICROSPECTROSCOPY) อาจารย์ที่ปรึกษา: ศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย, 54 หน้า

คำสำคัญ: ฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดไมโครสเปกโตรสโคปี/ลิงวอก/เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน/ระยะไพรม์/ระยะคล้ายนาอีฟ

งานวิจัยนี้ได้ใช้ Fourier transform infrared (FTIR) microspectroscopy เพื่อศึกษาลักษณะของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอก (rhESCs) ซึ่งอยู่ในระยะไพรม์ และระยะคล้ายนาอีฟ ของสภาวะพลูริโพเทนซี เซลล์สองสายพันธุ์มีที่มาจากเซลล์ต้นกำเนิดเดียวกัน (rhESCs-FGF2/KOSR) และนำมาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่แตกต่างกันเพื่อให้ได้สภาวะคล้ายนาอีฟ คือ rhESCs-ALGöX Immunocytochemistry และ RNA sequencing จะถูกใช้เปรียบเทียบเพื่อยืนยันผลที่ได้จาก FTIR สเปกตรัม ด้วยเครื่องหมายจำเพาะระยะนาอีฟ (KLF17, ALPPL2, TFCP2L1 และ TFAP2C) และเครื่องหมายจำเพาะระยะไพรม์ (OTX2) ยืนยันสภาวะของเซลล์แต่ละระยะได้อย่างชัดเจน ขณะที่ข้อมูลจากการถอดรหัสพันธุกรรมยังแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของการแสดงออกของยีนที่ชัดเจนเช่นกัน rhESCs-FGF2/KOSR แสดงการแสดงออกของยีนในระยะไพรม์สูงขึ้น ได้แก่ *NODAL*, *OTX2*, *ETV4*, *BMP4*, *FST* และ *SOX3* ในทางตรงกันข้าม rhESCs-ALGöX แสดงการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับระยะนาอีฟสูงขึ้น ได้แก่ *KLF2*, *DPPA2*, *DPPA3*, *ZFP42*, *PRDM14* และ *TFCP2L1* การวิเคราะห์ด้วย FTIR เผยให้เห็นความแตกต่างทางสเปกตรัมอย่างมีนัยสำคัญระหว่างเซลล์ระยะไพรม์และระยะคล้ายนาอีฟ เซลล์ระยะคล้ายนาอีฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงสูงกว่าในบริเวณที่เกี่ยวข้องกับโปรตีน (แถบเอไมด์หนึ่ง และสอง ที่ 1654 และ 1546 เซ็นติเมตร$^{-1}$) และกรดนิวคลีอิก (1240 และ 1080 เซนติเมตร$^{-1}$) ในขณะที่เซลล์ระยะไพรม์ มีค่าการดูดกลืนแสงสูงกว่าในแถบที่เกี่ยวข้องกับไขมัน (สเปกตรัมการยืดหดของพันธะ C–H ที่ 2921-2852 เซ็นติเมตร$^{-1}$ และ การยืดหดของพันธะลิปิดเอสเทอร์ C=O ที่ 1741 เซ็นติเมตร$^{-1}$) การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis; PCA) ของ FTIR สเปกตรัม ของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอก ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสองสภาวะที่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าสเปกตรัมของ rhESCs-FGF2/KOSR และ rhESCs-ALGöX สามารถแบ่งแยกออกจากกันด้วยองค์ประกอบหลักที่ 1 โดยสามารถอธิบายความแปรปรวนทั้งหมดในชุดข้อมูลได้ถึงร้อยละ 64 การวิเคราะห์จำแนกความแตกต่างแบบกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (Partial Least Squares–Discriminant Analysis; PLS–DA) สามารถจำแนกสภาวะของเซลล์ทั้งสองได้อย่างมีประสิทธิภาพด้วยความไว 100% และความจำเพาะ 100% ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า FTIR microspectroscopy สามารถจำแนกลักษณะทางชีวเคมีเฉพาะของสภาวะพลูริโพเทนต์ ในเซลล์ต้น

กำเนิดตัวอ่อนลิงวอก ซึ่งรวดเร็ว และไม่ต้องใช้สารบ่งชี้ในการตรวจสอบเอกลักษณ์และคุณภาพของเซลล์ต้นกำเนิด

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2568

ลายมือชื่อนักศึกษา .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Kanjana Thumanu

JITTANUN SRISUTUSH: CHARACTERIZATION OF RHESUS MONKEY EMBRYONIC STEM CELLS IN PRIMED AND NAÏVE-LIKE STATES OF PLURIPOTENCY USING FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR) MICROSPECTROSCOPY. THESIS ADVISOR: PROF. RANGSUN PARNPAI, PH.D., 54 PP

Keyword: Fourier Transform Infrared/Rhesus macaque/Embryonic Stem Cells/primed states/naïve-like cell states

This research employed Fourier transform infrared (FTIR) microspectroscopy to characterize rhESCs in primed and naïve-like states of pluripotency. Two cell lines, derived from a common parental line (rhESC-FGF2/KOSR), were cultured under distinct conditions to establish naïve-like states: rhESC-ALGöX. Immunocytochemistry and RNA sequencing were used in parallel to validate FTIR spectra findings. Naïve markers (KLF17, ALPPL2, TFCP2L1 and TFAP2C) and primed markers (OTX2) confirmed the respective cell states, while transcriptomic profiling further demonstrated clear gene expression differences. rhESCs-FGF2/KOSR showed elevated expression of primed state genes including *NODAL*, *OTX2*, *ETV4*, *BMP4*, *FST*, and *SOX3*, whereas rhESCs-ALGöX exhibited high expression of naïve–associated genes including *KLF2*, *DPPA2*, *DPPA3*, *ZFP42*, *PRDM14*, and *TFCP2L1*. FTIR analysis revealed significant spectral differences between primed and naïve-like cells. Naïve-like cells showed stronger absorbance in regions associated with protein associated bands (Amide I and II bands at 1654 and 1546 cm^{-1}) and nucleic acids (1240 and 1080 cm^{-1}), while primed cells exhibited stronger absorbance in regions in lipid–associated bands (C–H stretching at 2921-2852 cm^{-1} and lipid ester C=O stretching at 1741 cm^{-1}). Principal Component Analysis (PCA) of FTIR spectra of rhESCs cultured under distinct conditions revealed that the spectra of rhESC-FGF2/KOSR and rhESC-ALGöX could discriminated in scores plots along PC1, which can be explained by the 64% of the total variance in the dataset. Partial Least Squares–Discriminant Analysis (PLS–DA) effectively classified the two cell states with 100% sensitivity and 100% specificity. These findings demonstrate that FTIR microspectroscopy can reliably discriminate pluripotent state specific biochemical

features in rhESCs, providing a rapid and label-free approach for monitoring stem cell identity and quality.

School of Biotechnology
Academic Year 2025

Student's Signature .....
Advisor's Signature .....
Co-Advisor's Signature .....
Co-Advisor's Signature Kanjana Thumanu