

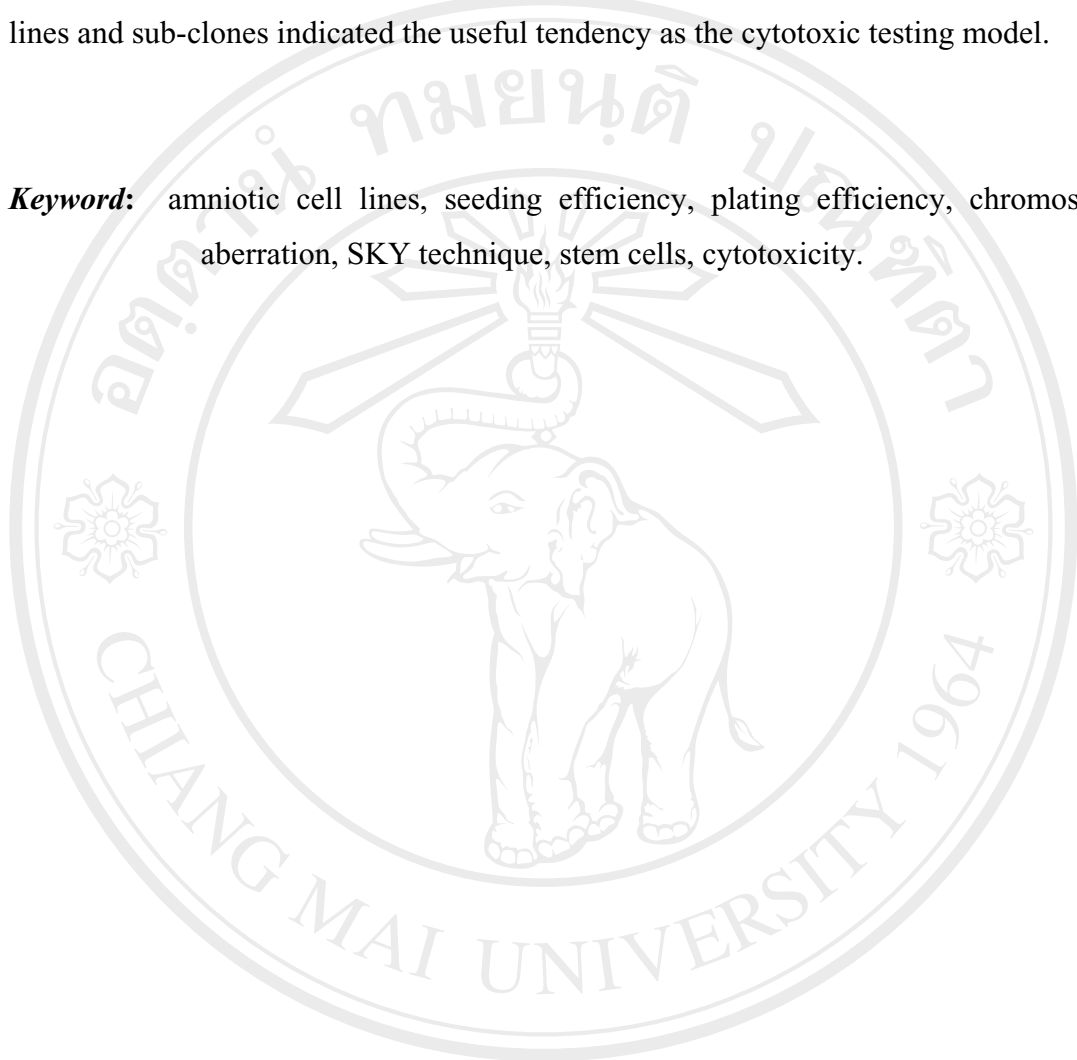
Thesis Title	Establishment and Study of Some Characteristics of Human Amniotic Fluid Cell Lines
Author	Miss Sirimanus Sangngam
Degree	Master of Science (Biology)
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Weerah Wongkham

ABSTRACT

This research aims to establish and study human amniotic cell lines from Thai in comparison to the two existed cell lines, the AMC-K46 and the AC-F2. The prenatal diagnosis (PND) human amniotic fluid was randomly taken from human genetic laboratory Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital. Only 37 from 110 samples exhibited the *in vitro* attachment in culture. Five cell types visualized in the primary and secondary cultures; the fibroblast-like cells and epithelial-like cells type I-IV. Seeding efficiency (SEf) and Plating efficiency (PEf) was studied. The tertiary cultures expressed higher percentage of apoptosis (37-82%) than the necrosis (11-32%). None of which could be developed as the continuous cell lines. The AMC-K46 and AC-F2 exhibited with three cell types; fibroblast-like cells, epithelial-like cells and giant cells. The epithelial-like cells were found more than 95% in every passage cultures. Five sub-clones name as; SC1 to SC5 were isolated from AC-F2. Two cell types were similarly observed in all five sub-clones; the epithelial-like cells and the giant cells. Similar SEf, PEf and growth pattern was observed from the cell line and sub-clones. The cells expressed the characteristic of contact inhibition monolayer. The AC-F2 and sub-clones were found with few apoptotic cells and necrotic cells. The modal chromosome number range of AMC-K46, AC-F2 and sub-clones was 52-67 chromosomes. The SKY analysis expressed two types of chromosome aberration; structural rearrangement (translocation) and aneuploidy without generation-dependent

recurring alteration. Negative signal for embryonic stem cell markers were detected in both AMC-K46 and AC-F2. The cytotoxicity was carried out by using sodium dodecyl sulfate (SDS) by the SRB assay and Probit analysis. The stable value of IC_{50} of the cell lines and sub-clones indicated the useful tendency as the cytotoxic testing model.

Keyword: amniotic cell lines, seeding efficiency, plating efficiency, chromosome aberration, SKY technique, stem cells, cytotoxicity.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การสร้างและศึกษาลักษณะเฉพาะบางประการของเซลล์เชื้อสาย
น้ำคร่ำมนุษย์

ผู้เขียน นางสาว ศิริมนัส แสงงาม

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร. วีระ วงศ์คำ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการสร้างและศึกษาเซลล์เชื้อสายน้ำคร่ำมนุษย์จากคนไทยโดยเปรียบเทียบกับเซลล์สองเชื้อสายที่มีอยู่คือ AMC-K46 และ AC-F2 โดยสุ่มตัวอย่างน้ำคร่ำส่งตรวจ (PND) จากห้องปฏิบัติการมนุษยพันธุศาสตร์ โรงพยาบาลมหาสารนครเชียงใหม่ พบว่ามีเพียง 37 ตัวอย่าง จาก 110 ตัวอย่างที่เซลล์สามารถลงเกาะในขวดเลี้ยงได้ พบเซลล์ห้าแบบในเซลล์ปฐมภูมิและทุติยภูมิ คือ เซลล์คล้ายไฟโบรบลาสต์และเซลล์คล้ายเซลล์บุผิวแบบที่ I ถึง IV และได้ศึกษาประสิทธิภาพในการลงเกาะของเซลล์ขณะเริ่มเพาะเลี้ยง (SEf) และประสิทธิภาพในการแบ่งตัวในงานเลี้ยง (PEf) ในเซลล์ตติยภูมิมิเปอร์เซ็นต์การตายแบบ apoptosis สูง (ร้อยละ 37-82) มากกว่าเซลล์ที่ตายแบบ necrosis (ร้อยละ 11-32) แต่ไม่มีตัวอย่างใดที่สามารถพัฒนาให้กลายเป็นเซลล์เชื้อสายต่อเนื่องได้ ส่วนในเซลล์ AMC-K46 และ AC-F2 พบเซลล์ 3 แบบ คือ เซลล์คล้ายไฟโบรบลาสต์ เซลล์คล้ายเซลล์บุผิว และเซลล์ยักษ์ โดยพบเซลล์คล้ายเซลล์บุผิวมากถึงร้อยละ 95 ในทุก ๆ รุ่นอายุที่เลี้ยง และสามารถแยกโคลนของเซลล์ AC-F2 ได้ห้าซับโคลนคือ SC1 ถึง SC5 ซึ่งทั้งห้าซับโคลนมีเซลล์สองแบบ คือ เซลล์คล้ายเซลล์บุผิว และเซลล์ยักษ์ พบว่า SEf, PEf และแบบแผนการเจริญของเซลล์มีลักษณะคล้ายกันทั้งเซลล์เชื้อสายและซับโคลน ซึ่งเซลล์ทั้งหมดมีลักษณะหยุดแบ่งตัวเมื่อเซลล์แตะกันและเกาะชั้นเดียว ทั้งนี้เซลล์ AC-F2 และซับโคลนมีร้อยละของเซลล์ที่ตายแบบ apoptosis และ necrosis เพียงเล็กน้อย จำนวนโครโมโซมฐานนิยมของเซลล์ AMC-K46, AC-F2 และ sub-clones อยู่ในช่วง 52-67 แห่ง การวิเคราะห์ห้ด้วยเทคนิค SKY แสดงให้เห็นความผิดปกติของโครโมโซมสองแบบ คือ มีการจัดเรียงทางโครงสร้าง (translocation) และความผิดปกติของจำนวนโครโมโซมโดยการเปลี่ยนแปลงนี้ไม่ขึ้นกับอายุของเซลล์ ไม่พบการแสดงออกของ

ตัวชี้วัดความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดของตัวอ่อนใน AMC-K46 และ AC-F2 การทดสอบด้านเซลล์พิษวิทยาโดยใช้ sodium dodecyl sulfate (SDS) ด้วยวิธี SRB assay และโปรแกรม Probit ในการวิเคราะห์ พบว่าค่า IC_{50} ของเซลล์เชื้อสายและซับโคลนมีความเสถียรแสดงให้เห็นแนวโน้มที่จะใช้เป็นโมเดลในการทดสอบทางด้านเซลล์พิษวิทยาได้

คำสำคัญ: amniotic cell lines, seeding efficiency, plating efficiency, chromosome aberration, SKY technique, stem cells, cytotoxicity



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved