วัตถุประสงค์ของการวิจัยคือ (1) ผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดี (Monoclonal antibody, MAb) ต่อแอนติเจนที่จำเพาะต่อสเปิร์มวาย (2) หาปฏิกิริยาไซโตทอกซิคซิตี้ที่เหมาะสมในการทำลายสเปิร์มที่มีโครโมโซมวาย และ (3) ผลิตน้ำเชื้อโคนมแช่แข็งที่มีอัตราส่วนสเปิร์มที่มีโครโมโซมเอ็กซ์มากกว่าสเปิร์มที่มีโครโมโซมวาย พบว่าหลังการเชื่อมเซลล์ 14 - 21 วันได้ตรวจพบกลุ่มโคลนลูกผสม (Hybridoma clone) จำนวน 3 โคลน จากทั้งหมด 148 โคลน ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อ เอชวายแอนติเจน เมื่อนำโคลนทั้ง 3 มาแยกเป็นโคลนเดี่ยวพบว่าเป็นอิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin) ชนิด IgG ทั้ง 3 โคลน จากนั้นเลือกโคลนหมายเลข 1F9-3B10 ที่มีการผลิตแอนติบอดีปริมาณมากที่สุดมาใช้ในปฏิกิริยาไซโตทอกซิค ปฏิกิริยาไซโตทอกซิค เป็นการบ่มระหว่างสเปิร์มโคนมกับโมโนโคลนอลแอนติบอดี และโปรตีนคอมพลีเมนต์ (Complement) จากหนูตะเภา พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของปฏิกิริยาไซโตทอกซิคคือระดับโมโนโคลนอลแอนติบอดีเจือจางที่ 1 : 10 และคอมพลีเมนต์เจือจางที่ 1 : 50 เมื่อวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค Immunofluorescence microscopy พบว่าผลของปฏิกิริยาทำให้สัดส่วนของสเปิร์มที่มีโครโมโซมวายลดลง (ควบคุมการเกิดเพศผู้) เหลือ 19 % หรือทำให้มีปริมาณสเปิร์มที่มีโครโมโซมเอ็กซ์ (ควบคุมการเกิดเพศเมีย) เพิ่มเป็น 81 % จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Immunofluorescence microscopy และเมื่อตรวจผลการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนเพศด้วยเทคนิค Real time PCR เพื่อวัดสัดส่วนของดัชนีชี้วัดทางพันธุกรรมด้วยยีน BOV97M ที่จำเพาะเจาะจงต่อสเปิร์มที่มีโครโมโซมวาย และยีน PLP ที่จำเพาะเจาะจงต่อสเปิร์มที่มีโครโมโซมเอ็กซ์ พบว่าน้ำเชื้อโคที่ผ่านปฏิกิริยาไซโตทอกซิค มีสัดส่วนของท่อนดีเอ็นเอ BOV97M น้อยกว่าถึง 10 เท่า เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม สำหรับยีน PLP กลุ่มคัดเพศมีท่อนดีเอ็นเอ PLP มากกว่ากลุ่มควบคุม 6 เท่า เมื่อใช้น้ำเชื้อคัดเพศในการผลิตตัวอ่อนหลอดแก้วพบว่าสัดส่วนเพศที่เกิดขึ้นของเพศผู้ : เพศเมีย มีสัดส่วนเท่ากับ 27 : 73 สำหรับการทำน้ำเชื้อคัดเพศแช่แข็ง เงื่อนไขปฏิกิริยาไซโตทอกซิคคือบ่มแอนติบอดีและคอมพลีเมนต์ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที โดยใช้ความเข้มข้นสเปิร์ม 40 x 10^6 เซลล์ต่อหลอด ให้คุณภาพน้ำเชื้อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยมีสเปิร์มที่มีโครโมโซมวายต่อสเปิร์มที่มีโครโมโซมเอ็กซ์เป็น 12 : 88 ผลการวิจัยครั้งนี้สรุปได้ว่าผลการทดสอบปฏิกิริยาไซโตทอกซิคในห้องปฏิบัติการสามารถนำมาปรับใช้ในการทำน้ำเชื้อคัดเพศในภาคสนามได้เป็นอย่างดี

The objectives of this research were : (1) to produce monoclonal antibodies (MAb) against specific antigen of Y- bearing sperm (2) to find out the optimal cytotoxic reaction to lysis Y-bearing sperm and (3) to produce frozen semen to enhance ratio of X- over Y-bearing sperm. Within 14 - 21 days after fusion, 3 wells with hybridoma clones of 148 clones were identified to be a positive clone and classified to be an IgG. The clone number 1F9-3B10 which produced highest antibody titer was chosen to use in cytotoxic reaction. Cytotoxic reaction is the reaction among dairy sperm, monoclonal antibody and complement protein from guinea pig. We found the optimal dilution of the MAb and the complement were 1 : 10 and 1 : 50, respectively. When the result was analysed by immunofluorescense microscopy method, it was found that cytotoxic reaction reduced ratio of Y- bearing sperm (control expression of male phenotype) to 19 % or increased ratio of X- bearing sperm (control expression of female phenotype) to 81 %. We confirmed the result from Real time PCR method, which the BOV97M primer was used to copy the DNA that specific to Y-bearing sperm and PLP primer was used to copy the DNA that specific to X-bearing sperm. The results confirmed that sexed semen had 10 times less BOV97M DNA copies than control group and sexed semen had 6 times more PLP DNA than control group. We used the sexed semen for *in vitro* embryo production and found out that the male : female ratio was 27 : 73. In conclusion, using of cytotoxic reaction which were the combination of MAb and complement from guinea pig able to change female calve from 50 to 82 (64 %)