

ภาคผนวก

วิธีการเตรียมน้ำยาในการเลี้ยงตัวอ่อนภายนอกร่างกาย

1. การเตรียม *DPBS* เพื่อนำไปใช้ในการเจาะดู การเจี๊จางเพื่อหาไข่อ่อนหลังจากเจาะดู และการล้างไข่อ่อนที่หาได้ก่อนนำไปล้างด้วย น้ำยา *IVM*

	/500 ml
NaCl	4.0 g
KCl	0.1 g
KH_2PO_4	0.1 g
Na_2HPO_4	0.575 g
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.05 g
CaCl_2	0.05 g
Na pyruvate	0.018 g
Glucose	0.5 g
BO A	2 %
Anti-biotic	1 หลอด

2. การเตรียมน้ำยาเลี้ยงไข่อ่อน

1. นำ TCM 199 มากรอง
2. เติม FCS 10%
3. เติม antibiotic 10 ไมโครกรัม/มล.
4. FSH 1 ไมโครกรัม/มล.
5. LH 10 ไมโครกรัม/มล.
6. estradiol 1 ไมโครกรัม/มล.

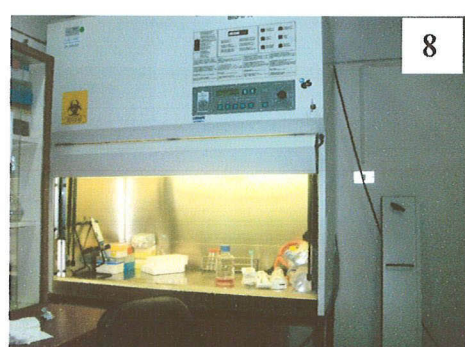
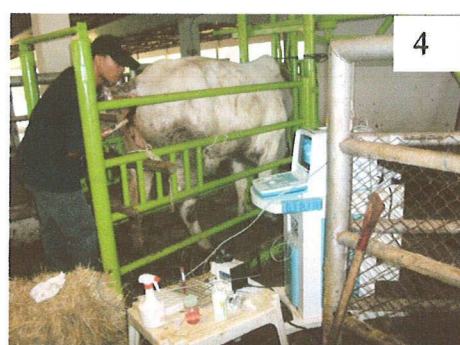
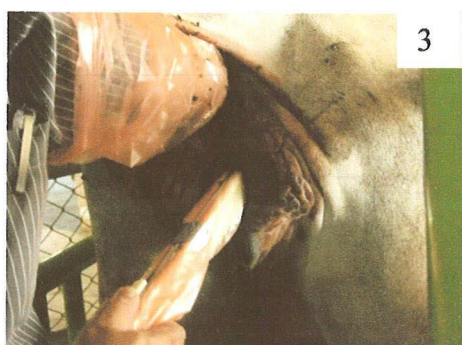
นำน้ำยาไปปั่นในตู้ CO_2 5% อย่างน้อย 6 ชั่วโมง ก่อนนำไปล้างไข่ และเลี้ยงไข่อ่อนที่ได้จากการเจาะดู

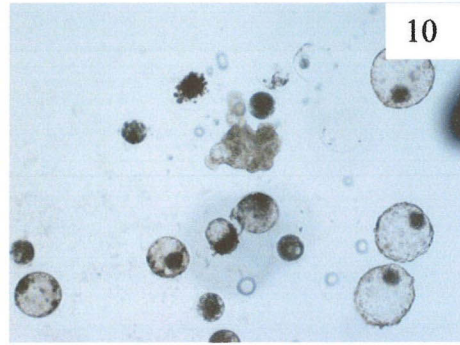
3. สูตรน้ำยา KSOM เตรียมน้ำยาสำหรับการเลี้ยงตัวอ่อน

Component	Concentration (mM)	g/100ml
NaCl	95.0	0.555
KCl	2.50	0.0186
KH ₂ PO ₄	0.35	0.00476
MgSO ₄	0.20	0.00493
Na.lactate	10.00	0.187
Glucose	0.20	0.0036
Na.pyruvate	0.20	0.0022
NaHCO ₃	25.0	0.210
CaCl ₂ (dihydrous)	1.71	0.0251
Glutamine	1.0	0.0146
EDTA (tetrasodium salt)	0.01	0.00038
BSA	1.0 mg/mL	
penicillin-G	100U/mL (60µg/mL)	
streptomycin.sulfate	50µg/mL	

เป็น working ใส่ KSOM 10 ml + antibiotic 100 µl + essential 100 µl + non essential 100 µl เลี้ยงใน
น้ำยา KSOM โดยต้องทำการเตรียมครีบน้ำยาไว้ก่อน 6 ชั่วโมง

4. ภาพการปฏิบัติงานวิจัย





- 1) แม่โคทดลอง
- 2) การสังเกตตรวจสอบสภาพระบบสืบพันธุ์
- 3) การสอดชุดเข็มเจาะเก็บไข่ และ probe ultrasound guided
- 4) การเจาะเก็บไข่ (oocyte) จากถุงไข่บนรังไข่
- 5) หลอดเก็บไข่ต่อฟองจากภายในแม่โค
- 6) ภาพรังไข่แม่โค
- 7) การตรวจหาไข่
- 8) ตู้ปลอดเชื้อ
- 9) หลอดเก็บของเหลวที่ได้จากการเจาะเก็บไข่จากแม่โค
- 10) การพัฒนาของตัวอ่อนภายนอกร่างกาย

