เอกสารอ้างอิง
(References)

Almond, G. W., and G. D. Dial. 1990. The influence of ovariectomy on luteinizing hormone concentrations in anestrous and cyclic sows. J. Anim. Sci. 68:700.

Asdell, S. A. 1928. The growth and function of the corpus luteum. Physiol. Rev.8:313.

Azmi, T.I., and T. A. Bongso. 1985. The Ultrastructure of the Corpus Luteum of the Goat. Pertanika 8:2.

Baserga, R. 1985. The Biology of Cell reproduction. Cambridge, Harvard University Press.

Bell, A. W., W. W. Jr. Hay, and R. A. Ehrhardt . 1999. Placental transport of nutrients and its implications for fetal growth. J. Reprod. Fertil. 54:401-410.

Berisha, B., D. Schams, M. Kosmann, W. Amselgruber, and R. Einspanier. 2000. Expression and localization of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor during the final growth of bovine follicles. J. Endocrin. 167:371-382.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.

Burton, K. 1956. A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. Biochem. J. 62:315-323.

Carlos, S., T. Carlos, and G. Geula. 2006. The Molecular Control of Corpus Luteum Formation, Function, and Regression. Endocrine Reviews 28. 1:117-149.

Carmeliet, P., V. Ferreira, G. Breier, S. Pollefeyt, L. Kieckens, M. Gertsenstein, M. Fahrig, A. Vandenhoeck, K. Harpal, C. Eberhardt, C. Declercq, J. Pawling, L. Moons, D. Collen, W. Risau, and A. Nagy. 1996. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. Nature 380:435-439.

Casida, L. E., and E. Warwick. 1945. The necessity of the corpus luteum for maintenance of pregnancy in the ewe. J. Anim. Sci. 4:34.

Corner, G. W. 1928. Physiology of the corpus luteum. I. The effect ot very early ablation of the corpus luteum pon embryos and uterus. Amer. Jour. Physiol. 86:74.

Cushwa, W.T., G. E. Bradford, G. H. Stabenfeldt, Y. M. Berger, and M. R. Dally. 1992. Ram Influence on Ovarian and Sexual Activity in Anestrous Ewes: Effects of isolation of ewes from rams before joining and date of ram introduction. J. Anim. Sci. 70:1195-1200.

Diskin, M. G., D. A. Kenny, L. D. Dunne, and J. M. Sreenan. 2002. Systemic progesterone pre- and post-AI and embryo survival in heifers. In: Irish Agricultural Research Forum proceedings. 27.

Drummond-Robinson, G., and S. A. Asdell. 1926. The relation between the corpus luteum and the mammary gland. J. Physiol. 61:608.

Hammond, John. 1927. The physiology, of reproduction in the cow. Cambridge Univ. Press, London.

Hart, G. H., and H. H. Cole. 1934. The source of estrin in the pregnant mare. Amer. Jour. Physiol. 109:320.

Hartman, C. G. 1941. Non-effect of ovariectomy on the twenty-fifth day of pregnancy in the rhesus monkey. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 48:221.

Johnson, G. E., and J. S. Challans. 1930. Ovariectomy and corpus luteum extract experiments in pregnant rats. Anat. Rec. 47:300 (Abs.).

Ferrara, N., H. Chen, T. Davis-Smyth, H. P. Gerber, T. N. Nguyen, and D. Peers. 1998. Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. Nat. Med. 4:336-340.

Ferrara, N., and H. P. Gerber. 2001. The role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis. Acta. Haematol. 106(4):148-56.

Fraser, M., and C. Wulff. 2003. Angiogenesis in the corpus luteum. Reproductive Biology and Endocrinology. 1:1-8.

Fowden, A. L., J. W. Ward, F. P. B. Wooding, A. J. Forhead, and M.Constancia. 2006. Programming placental nutrient transport capacity. J. Physiol. 572.1:5–15.

Grazul-Bilska, A. T., D. A. Redmer, M. L. Johnson, S. A. Jablonka-Shariff, J. J. Bilski, and L. P. Reynolds. 1996. Gap junctional protein connexin 43 in bovine corpora lutea throughout the estrous cycle. Biol. Reprod. 54(6):1279-1287.

Hasler, J. F., R. A. Bowen, L. D. Nelson, and G. E. Jr Seidel. 1980. Serum progesterone concentrations in cows receiving embryo transfers. J. Reprod. Fertil. 58:71–77.

Jablonka, S. A., A. T. Grazul-Bilska, D. A. Redmer, and L. P. Reynolds. 1993. Growth and Cellular Proliferation of ovine corpora lutea throughout the estrous cycle. Endocrinol. 133(4):1871-1879.

Jousan, F. D., and P.J. Hansen. 2004. Insulin-like growth factor-I as a survival factor for the bovine preimplantation embryo exposed to heat shock. Biol. Reprod. 71:1665–1670.

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

Lucy, M.C. 2001. Reproduction loss in high-producing dairy cattle: Where will it end J. Dairy. Sci. 84:1277-1293.

Lynch, C., D. Kenny, S. Childs, and M. Diskin. 2010. The relationship between periovulatory endocrine and follicular activity on corpus luteum size, function, and subsequent embryo survival. Theriogenology 73:190-198.

Meites, J., H. D. Webster, F. W. Young, J. F. Thorp, and R. N. Hatch. 1951. Effects of corpora lutea removal and replacement with progesterone on pregnancy in goats. J. Anim. Sci. 10:411-416.

Murdoch, W. J., and E. A. Van Kirk. 1998. Luteal dysfunction in ewes induced to ovulate early in the follicular phase. Endocrinology. 139:3480-3484.

Niswender, G. D. 2002. Molecular control of luteal secretion of progesterone. Reproduction. 123:333-339.

Redmer, D. A., and L. P. Reynolds. 1996. Angiogenesis in the ovary. Rev. Reprod. 1:182-192.

Redmer, D. A., V. Doraiswamy, B. J. Bortnem, K. Fisher, S. A. Jablonka, A. T. Grazul-Bilska, and L. P. Reynolds. 2001. Evidence for a role of capillary pericytes in vascular growth of the developing ovine corpus luteum. Biol. Reprod. 65:879-889.

Redmer D. A., S. L. Luther, J. S. Milne, R. P. Aitken, M. L. Johnson, P. P. Borowicz, M. A. Borowicz, L. P. Reynolds and J. M. Wallace. 2009. Fetoplacental growth and vascular development in overnourished adolescent sheep at day 50, 90 and 130 of gestation. Reproduction. 137(4): 749-757.

Remsen, L. G., and J. D. Roussel. 1982. Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. Theriogenology 18:365–372.

Reynolds, L. P., D. S. Millaway, J. D. Kirsch, J. E. Infeld, and D. A. Redmer. 1990. Growth and in-vitro metabolism of placental tissues of cows from day 100 to day 250 of gestation. J. Reprod. Fertil. 89:213-222.

Reynolds, L. P., S. D. Killilea and D. A. Redmer. 1992. Angiogenesis in the female reproductive system. FASEB J. 6:886-892.

Reynolds, L. P., A. T. Grazul-Bilska, and D. A. Redmer. 2002. Angiogenesis in the female reproductive organs: pathological implications. Int J. Exp. Pathol. 83:151-163.

Reynolds, L. P., J. S. Caton, D. A. Redmer, A. T. Grazul-Bilska, K. A. Vonnahme, P. P. Borowicz, J. S. Luther, J. M. Wallace, G. Wu, and T. E. Spencer. 2005. Evidence for altered placental blood flow and vascularity in compromised pregnancies. J. Physiol. 572:51-58.

Saharrea, A., J. Valencia, A. Balca' zar, O. Medja, J. L. Cerbo' n, V. Caballero, and L. Zarco. 1998. Premature luteal regression ingoats superovulated with PMSG: effect of hCG or GnRHadministration during the early luteal phase. Theriogenology 50:1039-1052.

Sartoris, P. 1938. Sui rapporti fra il corpo luteo e gravidanza nella bovina [The relation between corpus luteum and pregnancy in the cow.] Nuovo Ercol. 43. 133. Cited from Animal Breed. Abs. 1940, 8:370

SAS. 2001. SAS/STAT: User Guide for the International Database. SAS Inst., Cary NC.

Shimizu, T., J. Jiang, K. Iijima, K. Miyabayashi, Y. Ogawa, H. Sasada, and E. Sato. 2003. Induction of follicular development by direct single injection of vascular endothelial growth factor gene fragments into the ovary of miniature gilts1. Bio. Reprod. 69:1388-1393.

Steel, R. G. D., J. H. Torrie, and D. A. Dickey. 1997. Principles and procedures of statistics a biometrical approach. 666 pp.

Streffer, C., and M. Molls. 1987. Cultures of preimplantation mouse embryos: A model for radiological studies. Adv. Radiat. Biology 13:169-213.

Vonnahme, K.A., and S. P. Ford. 2003. Placental vascular endothelial growth factor receptor system mRNA expression in pigs selected for placental efficiency. J. Physiol. 554:194-201.

Webb, R., K. J. Woad, and D. G. Armstrong. 2002. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms. Domest. Anim. Endocrinol. 23:277–285.

Young, F. M., F. E. Rodger, P. J. Illingworth, and H. M. Fraser. 2000. Cell proliferation and vascular morphology in the marmoset corpus luteum. Human Reproduction. 153: 557-566.

Zarkawi, M., and Soukouti, A. 2001. Serum progesterone levels using radioimmunoassay during oestrus cycle of indigenous Damascus does. NewZealand. J. of Agri. Res. 44: 165-169.

ภาคผนวก

(Appendix)

1. การตรวจสอบการเป็นสัด

การตรวจสอบการเป็นสัดในแพะเพศเมีย โดยการใช้แพะเพศผู้ที่ผ่าตัดท่อนำเชื้อออสุจิแล้ว (vasectomize buck) เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในต่างประเทศ ซึ่งแพะเพศผู้ที่ได้รับการผ่าตัดท่อนำเชื้อนี้สามารถใช้ในการเหนี่ยวนำเพื่อให้เกิด "buck effect" และใช้ในการตรวจสอบแพะเพศเมียแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดก่อนที่จะได้รับการผสมพันธุ์ (Boundy and Cox, 1996)

ภาพผนวกที่ 1 การเตรียมแพะก่อนเข้างานทดลอง

ภาพผนวกที่ 2 การใช้แพะเพศผู้ที่ผ่าตัดท่อนำเชื้อออสุจิแล้ว (vasectomize buck) สำหรับเช็คอาการเป็นสัด

2. การผ่าตัดเปิดช่องท้อง (Laparotomy)

การผ่าตัดเปิดช่องท้องแพะทำตามวิธีการของ Jarell and Dziuk (1991) ที่เวลา 24 และ 72 ชั่วโมง หลังจากการฉีด hCG เพื่อตรวจนับจำนวนของ CH (corpora haemorrhagica) เปรียบเทียบกับจำนวน CL (corpora luteum) ที่ปรากฏอยู่บนรังไข่ เพื่อนำไปคำนวณหาอัตราการตกไข่ในแต่ละระยะเวลา โดยมีวิธีการดังนี้

2.1 จำนวนผู้ปฏิบัติหน้าที่ ได้แก่ ผู้ผ่าตัด ผู้ช่วยผ่าตัด ผู้ช่วย 1 และผู้ช่วย 2 โดยผู้ช่วยที่ทำหน้าที่ในการวางยาสลบ มีสมุดบันทึกขนาดของยา Zylaxine hydrochloride (Rompun) และ ยาชาเฉพาะที่ (lidocaine) ที่ใช้โดยต้องบันทึกขนาดที่ใช้ และเวลาที่ฉีดทุกครั้ง

2.2 อุปกรณ์ ที่ใช้ในการผ่าตัด

2.2.1 อุปกรณ์ผ่าตัดและถาดผ่าตัด 2 ถาด

2.2.2 ยา zylaxine (Rompun), ยาชาเฉพาะที่ (Lidocaine)

2.2.3 น้ำยาฆ่าเชื้อโรค ได้แก่ dettol, povidone แอลกอฮอล์ 70%

2.2.4 น้ำยา PBS หรือ Normal Saline

2.2.5 ซองควบคุม หรือ cradle พร้อมเชือกตรึงสัตว์

2.2.6 กระบอกฉีดยา (Syringe) ขนาด 1 มล. และ 5 มล.

2.2.7 เข็ม (needle) เบอร์ 21, เบอร์ 23

2.2.8 อุปกรณ์ผ่าตัด ได้แก่ needle holder, tissue forcep,เข็มเย็บภายใน, เข็มเย็บภายนอก ไหมละลาย (cat gut) ขนาดยาวกว่า 1 ม. และไหมไม่ละลาย ขนาดยาวกว่า 1.5 ม.

2.2.9 steriled gauze จำนวน 6 ชิ้น หรือใช้สำลีพันด้วย steriled gauze

2.2.10 อุปกรณ์ทำความสะอาดบริเวณผ่าตัด ได้แก่ แปรง, มีดโกน, สำลีก้อน

2.2.11 สารป้องกันแมลงวัน หรือ Negasant®

2.2.12 ยาปฏิชีวนะ และ ยาระงับอาการปวด เช่น Fentanyl

2.2.13 อื่นๆ ได้แก่ นาฬิกาจับเวลา ถุงมือ หน้ากาก (mask) เสื้อกาวนด์ สมุดบันทึก

2.3 วิธีการ

2.3.1 ผู้ช่วย 1 หรือ 2 ทำการอดอาหารและน้ำของสัตว์อย่างน้อย 24 ชั่วโมงก่อนการผ่าตัด เพื่อป้องกัน regurgitation ระหว่างการให้ยาและการผ่าตัด

2.3.2 เตรียมอุปกรณ์ให้ครบถ้วน ในตำแหน่งที่สะดวกในการปฏิบัติงาน จากนั้นทำความสะอาดสถานที่บริเวณที่จะทำการผ่าตัด ผู้ช่วยในการผ่าตัดเตรียมน้ำยา dettol เจือจางไว้ในถาดผ่าตัด จากนั้นผู้ช่วย 1 และ 2 ช่วยกันจับสัตว์ เพื่อเก็บตัวอย่างเลือดปริมาณ 7 ml ที่ jugular vein

2.3.3 ผู้ช่วย 1 จับควบคุมสัตว์โดยการยกขาหน้าขึ้น ผู้ช่วย 2 ฉีด Anesthetic drugs (dose ที่ใช้ตามขนาดข้างขวด 0.03 มล. ต่อน้ำหนักตัว 10 กก. สัตว์ขนาด 20 กก. ใช้ 0.06 มล.) ฉีดเข้าที่กล้ามเนื้อบริเวณขาหนีบของสัตว์ สังเกตอาการตอบสนองของสัตว์ เมื่อสัตว์มีการขัดขืนน้อยลงแล้วจับสัตว์หงายท้องแล้วให้ทำการมัดติดที่ cradle ด้วยเชือกที่เตรียมไว้ขนาดประมาณ 1-2 เมตร จำนวน 4 เส้น

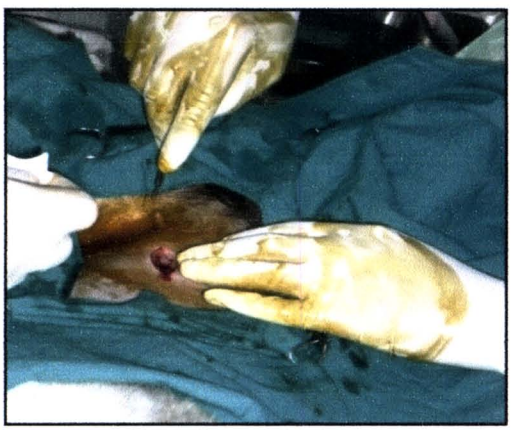
2.3.4 ผู้ช่วย 1 หรือ 2 ทำความสะอาดบริเวณที่ต้องการผ่าตัดโดยใช้สบู่และแปรงขัดที่บริเวณรอบๆท้อง หากมีขนให้โกนขนออกให้เรียบร้อย จากนั้นพ่นด้วย povidone ให้ทั่วบริเวณที่ต้องการผ่าตัด (ตรวจสอบการตอบสนองของร่างกายสัตว์ ชีพจร และการหายใจของสัตว์อย่างสม่ำเสมอ)

2.3.5 ผู้ผ่าตัดเตรียมตัวใส่ถุงมือ หน้ากาก เสื้อกาวนด์ จากนั้นผู้ช่วย 1 หรือ 2 พ่นแอลกอฮอล์ที่มือทั้งสองข้างของผู้ผ่าตัด จากนั้นผู้ช่วยในการผ่าตัดเตรียมอุปกรณ์การผ่าตัด เข็ม catgut ไหมไม่ละลาย แช่ลงในถาดผ่าตัด

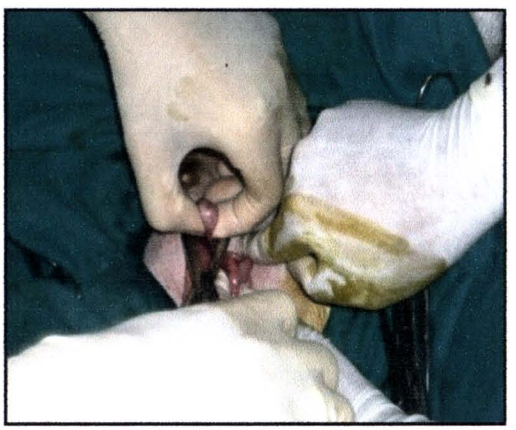
2.3.6 ผู้ผ่าตัดกรีดเปิดปากแผลยาวประมาณ 3 นิ้ว เพื่อเปิดช่องท้อง ตรวจหารังไข่ และนับจำนวนของ CL เสร็จแล้วตัดเก็บรังไข่ทั้งสองข้างนำเก็บใน normal saline จากนั้นรีบปิดปากแผลทันทีโดยการเย็บปิดหน้าท้อง และ ฉีดยาปฏิชีวนะชนิด Penstrep 5 มล. เพื่อป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรีย

2.3.7 ฉีดยาระงับอาการปวด 2 มล. แล้วพ่นด้วย povidone จากนั้นโรย Negasant® เพื่อป้องกันมิให้แมลงวันวางไข่ซึ่งจะทำให้เกิดการติดเชื้อ

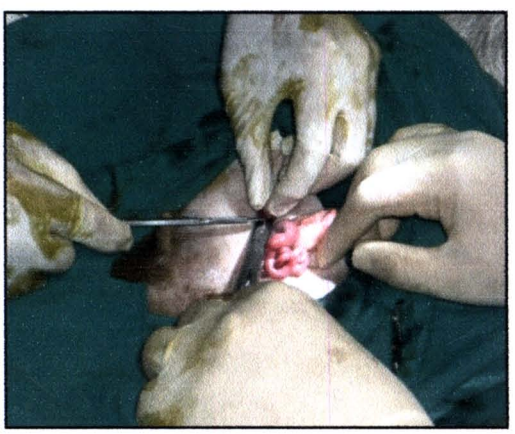
2.3.8 ผู้ดูแลสัตว์ทำความสะอาดแผล และฉีดยาปฏิชีวนะติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 3 วัน และตัดไหมไม่ละลาย ออกหลังจากผ่าตัด 7 วัน



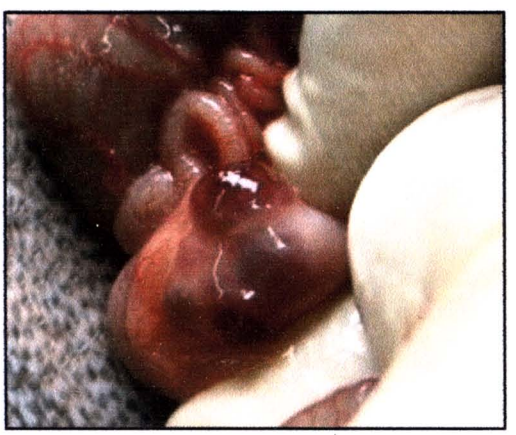
ภาพผนวกที่ 3 แสดงการกรีดเปิดปากแผลยาวประมาณ 3 นิ้ว เพื่อเปิดช่องท้อง



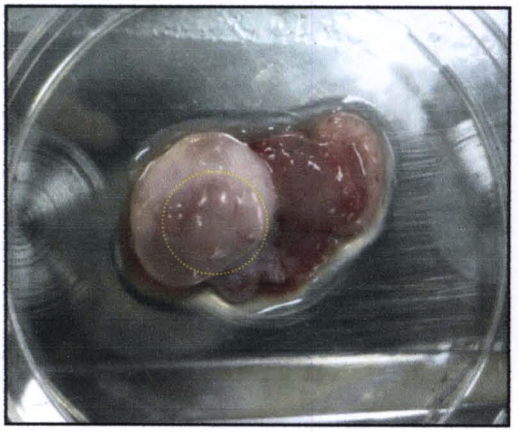
ภาพผนวกที่ 4 การตรวจหารังไข่ และนับจำนวนของ CL



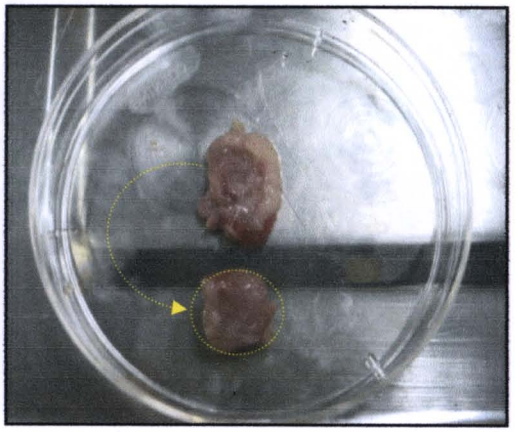
ภาพผนวกที่ 5 การตัดเก็บตัวอย่างรังไข่ที่ปรากฏ CL เพื่อเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์



ภาพผนวกที่ 6 นับจำนวน CH และ CL ที่ปรากฏบนรังไข่



ภาพผนวกที่ 7 ภาพตัวอย่างรังไข่ที่ปรากฏ CL บนผิวรังไข่อย่างชัดเจน



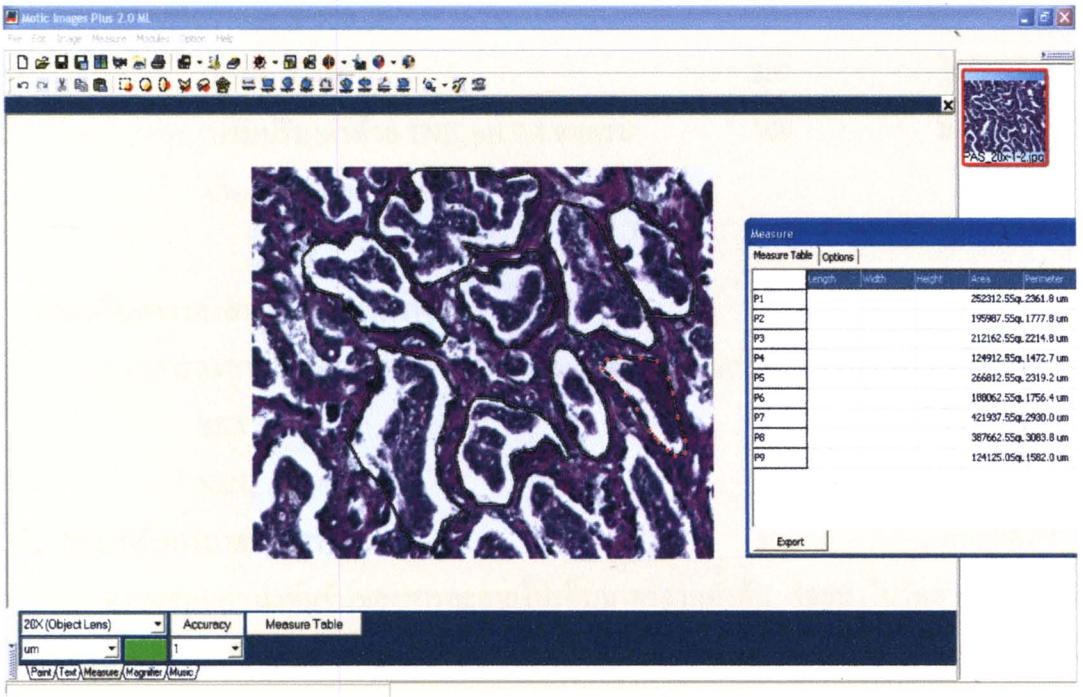
ภาพผนวกที่ 8 ทำการแยกเนื้อเยื่อส่วนที่เป็น Luteal tissue ออกจาก Non-luteal tissue

ภาพผนวกที่ 9 การเจาะดูดฟอลลิเคิลเก็บโอโอไซต์ เพื่อนำไปวิเคราะห์ และวัดคุณภาพ

ภาพผนวกที่ 10 ทำการเก็บรักษาเนื้อเยื่อส่วน luteal tissue เพื่อเตรียมนำไปวิเคราะห์

a b

ภาพผนวกที่ 11 (a-b) การผ่าตัดเก็บรกแพะ เพื่อนำไปวิเคราะห์ น้ำหนักจำนวนและความหนาแน่นของเส้นเลือด



ภาพภาคผนวกที่ 12 การประเมินพื้นที่ (Area; μm^2) และเส้นรอบวง (Perimeter; μm) รกแพะพื้นเมืองไทย สีย้อม PAS: Periodic Schiff Acid Staining เลนส์วัตถุ 20x

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมด

1. การเตรียมสารเคมีสำหรับการสกัดโปรตีน

1.1 TNE (0.05 M. Tris, 2.0 M NaCl, 0.002 M EDTA, pH 7.4)

Tris HCL	6.61	กรัม
Tris base	0.097	กรัม
NaCl	116.88	กรัม
NaN_3	0.2	กรัม
เติม 0.2 M EDTA	10	มิลลิลิตร
ปรับ pH 7.4		
เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรครบ	1,000	มิลลิลิตร
เก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิห้อง		

1.2 0.2% Triton X-100

Triton X-100	200	ไมโครลิตร
ปรับปริมาตรด้วย TNE, pH 7.4 จนครบ	100	มิลลิลิตร
เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C		

2. การเตรียมสารละลายโปรตีนมาตราฐาน

2.1 สารละลายโปรตีนมาตรฐานตั้งต้น (Stock BSA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

BSA	50	มิลลิกรัม
NaN_3	10	มิลลิกรัม
เติม TNE ปรับปริมาตรให้ครบ	50	มิลลิลิตร

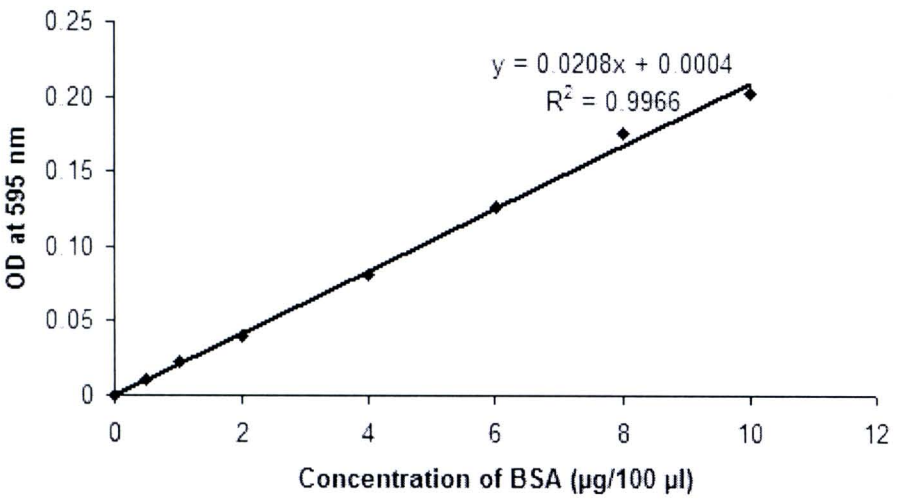
ตรวจสอบความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนมาตรฐานตั้งต้น โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 280 nm ใช้ ddH_2O เป็น blank ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้เท่ากับ 0.58 หรือ 0.61-0.63 (Bradford, 1976) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C

2.2 การเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (BSA standards)

เจือจางสารละลายโปรตีนมาตรฐานตั้งต้นให้มีความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 µg/100 µl เพื่อทำกราฟมาตรฐาน (ตารางภาคผนวกที่ 11)

ตารางภาคผนวกที่ 1 การเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

Standard	final conc. (µg/100 µl)	Stock BSA (µl)	TNE (ml)
Blank	0	0	10000
STD A	0.5	50	9950
STD B	1	100	9900
STD C	2	200	9800
STD D	4	400	9600
STD E	6	600	9400
STD F	8	800	9200
STD G	10	1000	9000



ภาพภาคผนวกที่ 13 การดูดกลืนแสงของโปรตีนมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ

วิธีวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอทั้งหมด

1. สารเคมีสำหรับวัดปริมาณดีเอ็นเอ

1.1 Perchloric acid solution

4.4 M PCA:

ตวง 60% Perchloric acid	46.02	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรด้วย ddH_2O จนครบ	100	มิลลิลิตร

0.4 M PCA:

ตวง 60% Perchloric acid	41.8	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรด้วย ddH_2O จนครบ	1000	มิลลิลิตร

1.2 DNA solutions

Solution A:

ตวง Glacial Acetic acid	500	มิลลิลิตร
เติม H_2SO_4	7	มิลลิลิตร
เก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิห้อง		

Solution B: 1.6 mg/ml Acetaldehyde

ไปเปต Acetaldehyde	41	ไมโครลิตร
เติม ddH_2O	20	มิลลิลิตร
เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °C		

1.3 Working solution

ชั่ง Diphenylamine	150	มิลลิกรัม
เติม DNA solution B	50	ไมโครลิตร
เติม DNA solution A	10	มิลลิลิตร
เตรียมก่อนใช้งาน		

2. การเตรียมสารละลายดีเอ็นเอมาตราฐาน

2.1 สารละลายดีเอ็นเอมาตราฐานตั้งต้น (DNA stock)

Deoxyribonucleic acid	15	มิลลิกรัม
เติม ddH2O	30	มิลลิลิตร

นำหลอดใส่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C และ vortex หลายๆ ครั้ง จนกระทั่งสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ตรวจสอบความเข้มข้นของ DNA stock ดังนี้

	blank
0.1 ml DNA stock	------
2.8 ml ddH_2O	2.9 ml ddH_2O
0.1 ml 4.4 M PCA	0.1 ml 4.4 M PCA
total = 3.0 ml	total = 3.0 ml

1) นำหลอดไปบ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ทำให้เย็นลงทันที โดยนำหลอดแช่ใน ice bath นาน 10 นาที จากนั้นนำไป vortex

2) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260 nm ใช้ ddH_2O เป็น blank

3) การประมาณค่าความเข้มข้นของ DNA stocks โดยใช้สูตรดังนี้

mg DNA/ml = Abs 260/26 *3.0/1

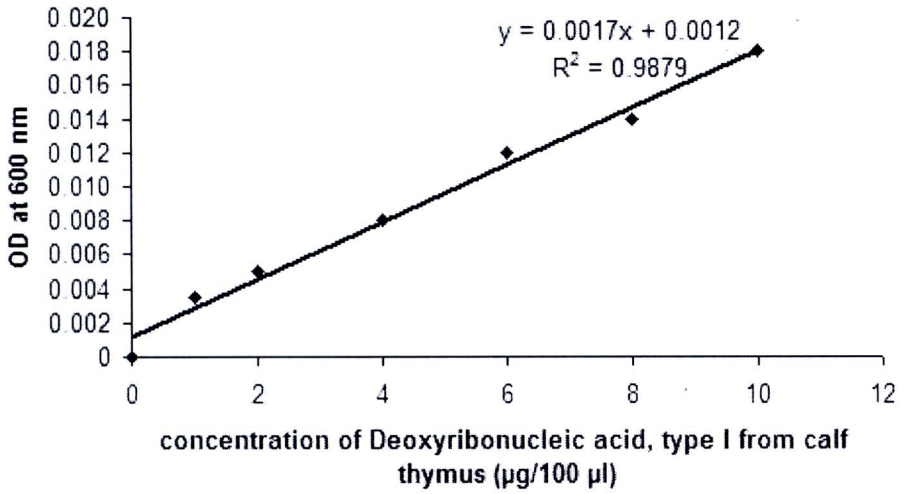
4) ใช้ความเข้มข้นของ DNA stock ที่คำควณได้ มาใช้คำนวณหาความเข้มข้น ของสารละลายดีเอ็นเอมาตราฐาน (DNA standards) แบ่งใส่หลอด แล้วนำไปแช่แข็งที่ –20 °C

2.2 การเตรียมสารละลายดีเอ็นเอมาตราฐาน (DNA standards)

เจือจางสารละลายดีเอ็นเอมาตรฐานตั้งต้นให้มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 µg/100 µl เพื่อทำกราฟมาตรฐาน (ตารางภาคผนวกที่ 12)

ตารางภาคผนวกที่ 2 การเตรียมสารละลายดีเอ็นเอมาตรฐาน

Standard	final conc. (µg/100 µl)	Stock DNA (550µg/ml) (µl)	0.4 M PCA (µl)
Blank	0	0	1000
STD A	1	18.18	981.82
STD B	2	36.36	963.64
STD C	4	72.73	927.27
STD D	6	109.09	890.91
STD E	8	145.45	854.55
STD F	10	181.82	818.18



ภาพภาคผนวกที่ 14 การดูดกลืนแสงของดีเอ็นเอมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

หนังสือฉบับนี้ให้ไว้เพื่อแสดงว่า

โครงการวิจัยเรื่อง : การศึกษาชีววิทยาโมเลกุลของการพัฒนาคอร์ปัสลูเทียมในระบบสืบพันธุ์แพะพื้นเมืองไทย (Molecular reproductive biology of corpus luteum development in Thai-native goat)

ผู้วิจัย : นายจิรัฐติ ธรรมศิริ/รศ.ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์

หน่วยงานที่สังกัด : ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์

ได้ผ่านการพิจารณาของ คณะกรรมการจรรยาบรรณและมาตรฐานการเลี้ยงและการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นแล้ว โดยยึดหลักเกณฑ์จรรยาบรรณการใช้สัตว์ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ให้ไว้ ณ วันที่ 20 มกราคม 2554

(รองศาสตราจารย์ไพบูลย์ สิทธิถาวร)
ประธานคณะกรรมการจรรยาบรรณและมาตรฐานการเลี้ยงและการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

(ศาสตราจารย์สุทธิพันธ์ จิตพิมลมาศ)
รองอธิการบดีฝ่ายวิจัยและการถ่ายทอดเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ลำดับที่ : จส.มข. 09/2554
เลขที่ : ศธ 0514.1.12.2/87

ฝ่ายวิจัยและการถ่ายทอดเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
123 ถนนมิตรภาพ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002
โทร.0 4320 2011 โทรสาร 0 4320 2015

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น