การย้ายฝากยีนเข้าตัวอสุจิโดยการฉีดเข้าทางลูกอัณฑะของสัตว์ (Testis-mediated gene transfer) เป็น วิธีการส่งถ่ายดีเอ็นเอจากภายนอกไปยังตัวอสุจิในระยะต่างๆระหว่างขบวนการสร้างเซลล์อสุจิภายในท่อเซมินิเฟอรัส งานวิจัยนี้ทำขึ้นเพื่อศึกษาผลกระทบของการฉีดดีเอ็นเอร่วมกับลิโปโซมเข้าทางอัณฑะต่อคุณภาพน้ำเชื้อและประสิทธิภาพการรับยีนของอสุจิ โดยใช้กระต่ายสายพันธุ์นิวซีแลนด์ไวท์ 10 กลุ่มๆละ 5 ตัว ทำการฉีดพลาสมิดดีเอ็นเอชนิด phrGFPII-1 แบบปลายปิด(Cir) หรือปลายเปิด(Lin) ร่วมกับลิโปโซมSuperFect®ในสัดส่วน 1:5 เก็บน้ำเชื้อหลังการฉีดในวันที่ 1 ถึง 48 มาทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ อันได้แก่ ปริมาตรน้ำเชื้อ จำนวนอสุจิรวมต่อการหลั่งหนึ่งครั้ง อัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ อัตราอสุจิที่มีชีวิต และอัตราความผิดปกติ และตรวจสอบการรับยีนของตัวอสุจิโดยเทคนิคPCR (polymerase chain reaction) และเทคนิคFISH (fluorescent *in situ* hybridization)

ผลการวิจัยพบว่า คุณภาพน้ำเชื้อของกระต่ายแต่ละกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่พบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบในแต่ละช่วงเวลาของการเก็บน้ำเชื้อ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตามคุณภาพน้ำเชื้อที่แตกต่างกันในแต่ละวันของการเก็บน้ำเชื้อไม่ได้น้อยไปกว่าวันก่อนการฉีดดีเอ็นเอ เมื่อตรวจสอบประสิทธิภาพการรับยีนของอสุจิพบว่า กระต่ายกลุ่มที่ได้รับการฉีดพลาสมิดดีเอ็นเอปลายเปิดปริมาณ 50 ไมโครกรัมผสมลิโปโซมSuperFect® 250 ไมโครลิตร (Lin-50) มีการตรวจพบผลผลิตพีซีอาร์ของยีนGFP ในอสุจิของกระต่าย 1 ถึง 3 ตัว ในกระต่ายทดลอง 5 ตัว (20-60%) และพบจำนวนอสุจิรวมต่อการหลั่งมีแนวโน้มลดลง จาก 117 ล้านตัว ในวันก่อนการฉีด เป็น 28 ล้านตัว ในวันที่ 10 หลังการฉีด และมีค่าสูงขึ้นเป็นปกติในวันที่ 48 อย่างไรก็ตามไม่มีการตรวจพบยีนด้วยเทคนิคFISHในกระต่ายทุกกลุ่ม การศึกษาเพิ่มเติมเพื่อตรวจสอบความสามารถในการส่งผ่านดีเอ็นเอจากตัวอสุจิไปยังสัตว์รุ่นลูกโดยการปล่อยให้กระต่ายเพศผู้ผสมกับกระต่ายเพศเมียในช่วงวันที่ 5-15 หลังการฉีด หรือการเก็บน้ำเชื้อไปใช้ในการผสมเทียม จะต้องมีทำการวิจัยในโอกาสต่อไป

การวิจัยครั้งนี้ถือเป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อใช้เป็นแนวทางในการสร้างสัตว์ดัดต่อพันธุกรรมโดยเฉพาะสัตว์เลี้ยงในฟาร์ม ซึ่งไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือราคาแพงและเทคนิคที่ซับซ้อน นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นแนวทางในการศึกษาขบวนการสร้างอสุจิภายในอัณฑะของสัตว์ โดยอาศัยการฉีดดีเอ็นเอซึ่งอาจเพิ่มการแสดงออกของยีน (gene overexpression) หรือยับยั้งการแสดงออกของยีน (gene interference) ได้ในอนาคต

198575

Gene transfer into spermatozoa by intratesticular injection (Testis-mediated gene transfer) is a method which gives a chance to transfer an exogenous DNA to sperm cells at different stages of spermatogenesis. This research was performed to study the effects of DNA injection in association with liposome on semen quality and to study the efficiency of DNA uptake after exogenous DNA transfer into rabbit sperm cells. Ten groups of five New Zealand White rabbits were injected with either circular (Cir) or linearized (Lin) plasmid phrGFPII-1 with liposome SuperFect® in the ratio 1:5 into testes. Semen samples were collected on different days for a period of 48 days post-injection. Semen quality including volume, total sperm count per ejaculation, motility, viability and abnormality, was analyzed. DNA uptake of sperm was determined by PCR technique and FISH technique.

The results showed there was no statistically significant difference in semen quality between groups of rabbits ($p>0.05$) but there was a statistically significant difference between semen collection periods ($p<0.05$). In any case, post-injection semen quality was never lower than that of pre-injection day. DNA uptake determination by PCR technique showed that one to three out of five rabbits (20-60%) in the group injected with the linearized plasmid 50 μg and SuperFect® 250 μl (Lin-50) were PCR positive. This group of rabbit also showed a decline in total sperm per ejaculation from 117 million on pre-injection day to 28 million on day 10 post-injection and an increase back to normal level after 48 days. However, the GFP gene was not detected in any rabbits by FISH technique. To determine whether transgenic sperm has the ability to transfer the gene to offsprings, mating the injected male with female rabbit or semen collection for artificial insemination during the 5-15 days post-injection need to be further investigated.

This research is preliminary information for transgenic animal production, especially in farm animals, with no requirement for advanced equipments and laborious techniques. Moreover, this could be a tool for the study of animal spermatogenesis via DNA injection either for gene overexpression or gene interference in the future.