บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การผลิตโคลูกผสมพื้นเมืองไทยในปัจจุบันได้มีการนำเอาเทคโนโลยีชีวภาพ โดยมีการนำเทคโนโลยีการย้ายฝากเอ็มบริโอ (embryo transfer) เข้ามาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์กว้างขวางขึ้น เนื่องจากวิธีการดังกล่าวเป็นการกระจายพันธุกรรมที่มีลักษณะที่ต้องการได้อย่างรวดเร็ว แต่พบว่าการย้ายฝากเอ็มบริโอมีข้อจำกัดอยู่ ส่งผลให้การย้ายฝากเอ็มบริโอไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร โดยในขั้นตอนของการย้ายฝากเอ็มบริโอนั้นมีกระบวนการที่สำคัญนั้น คือการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอก่อนที่จะทำการย้ายฝากเอ็มบริโอเข้าไปในตัวแม่ (มงคล, 2543) ในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโออาหารที่ใช้ในการเลี้ยงนับว่ามีผลต่อการพัฒนาเป็นอย่างมาก เนื่องจากอาหารเป็นตัวหลักที่จะนำไปใช้ในการพัฒนาระบบต่าง ๆ ของเซลล์และการสร้างสารต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการฝังตัวของเอ็มบริโอโดยพบว่าการที่เอ็มบริโอจะเข้าฝังตัวในมดลูกของแม่ได้นั้นจะต้องเกิดภาวะที่เรียกว่า maternal recognition of pregnancy คือ การยอมรับของแม่ในการตั้งท้อง (Senger, 1997)

โดยพบว่าเอ็มบริโอในระยะบลาสโตซีส (blastocyst) จะมีการสร้างโปรตีน คือ interferon tau (IFN-τ) จากโทรโฟบลาส (trophoblast) และจะส่งสัญญาณไปกระตุ้นเยื่อบุโพรงมดลูกชั้นเอนโดมีเทรียม (endometrium) ซึ่งในชั้นนี้มีตัวรับสัญญาณอยู่ เช่น CXCL10, LGALS15 (Allison et al., 2006) โดยพบว่า IFN-τ มีผลไปยับยั้งการสังเคราะห์ $PGF_{2\alpha}$ และเป็นตัวสนับสนุนการคงอยู่ของ corpus luteam (CL) ซึ่ง CL จะสร้าง progesterone เพื่อรักษาสภาพของเยื่อบุโพรงมดลูกให้เหมาะสมต่อการฝังตัวของเอ็มบริโอ เพราะฉะนั้นการเลี้ยงเอ็มบริโอนอกร่างกายก็มีความสำคัญมาก โดยจะต้องคำนึงถึงอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเอ็มบริโอไว้เป็นอันดับแรก ๆ ซึ่งในอาหารนั้นก็ควรจะมีแหล่งโปรตีนสำหรับเอ็มบริโอด้วย พบว่าในปัจจุบันมีการเสริมแหล่งโปรตีนให้กับเอ็มบริโอ เช่น fetal calf serum (FCS), estrus cow serum (ECS), bovine serum albumin (BSA) เป็นต้น เพื่อจะได้มีส่วนช่วยในการ ฝังตัวของเอ็มบริโอด้วย (Sanjeev et al., 2001)

นอกจากนั้นโปรตีนตระกูล BCL-2 ยังแบ่งออกได้ 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ทำหน้าที่ในการยับยั้งการเกิดอะพอพโทซิส (apoptosis) (BCL-2, BCL-W, BCL-X_L, MCl-1) และกลุ่มที่ทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นการเกิดอะพอพโทซิส (BAX, BAK, BOK, BIK, BLK, HRK, BAD, BID, BCL-X_S) จากการทดลองของ Yang and Rajamahendran (2002) พบว่ามีปริมาณ mRNA ของ BCL-2 สูงในกลุ่มโอโอไซต์และเอ็มบริโอที่มีคุณภาพดีและมีการเกิดการตายของเอ็มบริโอในปริมาณที่น้อย ในทางตรงกันข้ามพบว่าปริมาณ mRNA ของ BAX มีปริมาณสูงในกลุ่มโอโอไซต์และเอ็มบริโอที่มีคุณภาพไม่ดี (Mann and Lamming, 2001)

1.2 วัตถุประสงค์ของงานทดลอง

1.2.1 เพื่อศึกษาถึงผลของการเสริมชนิดของ serum ต่อคุณภาพของโอโอไซต์และเอ็มบริโอโคลูกผสมพื้นเมือง

1.2.2 เพื่อศึกษาการประเมินคุณภาพของโอโอไซต์ และเอ็มบริโอในโคพื้นเมืองโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ mRNA ของจีน IFN-τ และ BCL-2

1.2.3 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอ็มบริโอเชิงคุณภาพภายนอกร่างกายโคลูกผสมพื้นเมือง

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

ศึกษาผลของ serum ที่มีผลต่อการแสดงออกของจีน IFN-τ และ BCL-2 โดยใช้ดัชนีชี้วัดทางชีวโมเลกุล ประกอบด้วย จีน IFN-τ และ BCL-2 ซึ่งใช้วัดคุณภาพทางชีวโมเลกุลของโอโอไซต์ในโคลูกผสมพื้นเมือง ตลอดจนการเจริญและพัฒนาของเอ็มบริโอในระยะบลาสโตซีส ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของเทคโนโลยีชีวภาพในการสืบพันธุ์ในโคลูกผสมพื้นเมือง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้องค์ความรู้ และเทคนิคในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอ็มบริโอภายนอกร่างกาย

1.4.2 สามารถประยุกต์ในใช้กับเทคโนโลยีช่วยในการสืบพันธุ์ (assisted reproductive technology) โดยใช้ดัชนีชี้วัดทางชีวโมเลกุลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์สัตว์เศรษฐกิจ