ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
209130

อิทธิพลของชนิด SERUM ต่อการแสดงออกของโปรตีนอินเทอร์เฟียรอนทาว (IFN-τ) และ BCL-2 ในการผลิตเอ็มบริโอของโค

EFFECT OF SERUM TYPE ON INTERFERON-TAU (IFN-τ) EXPRESSION AND BCL-2 IN BOVINE EMBRYO PRODUCTION

นางสาวอภิรดี สารรัตนะ

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
พ.ศ. 2554

b00257481

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

209130

อิทธิพลของชนิด SERUM ต่อการแสดงออกของโปรตีนอินเทอร์เฟียรอนทาว (IFN-τ) และ BCL-2 ในการผลิตเอ็มบริโอของโค

EFFECT OF SERUM TYPE ON INTERFERON-TAU (IFN-τ) EXPRESSION AND BCL-2 IN BOVINE EMBRYO PRODUCTION

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

นาวสาวอภิรดี สวรรค์นคร

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
พ.ศ. 2554

EFFECT OF SERUM TYPE ON INTERFERON-TAU (IFN-τ) EXPRESSION AND BCL-2 IN BOVINE EMBRYO PRODUCTION

MISS APIRADEE SWANNAKORN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN ANIMAL SCIENCE
GRADUATE SCHOOL KHON KAEN UNIVERSITY
2011

ใบรับรองวิทยานิพนธ์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
หลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์

ชื่อวิทยานิพนธ์: อิทธิพลของชนิด SERUM ต่อการแสดงออกของโปรตีนอินเทอร์เฟียรอนทาว (IFN-τ) และ BCL-2 ในการผลิตเอ็มบริโอของโค

ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์: นางสาวอภิรดี สวรรค์นคร

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์:

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภาวดี ภักดี	ประธานกรรมการ
ศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. กัญจนะ มากวิจิตร์	กรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์	กรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ จารุกำจร	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พญ. พิสมัย ยืนยาว	กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์:

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ จารุกำจร)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พญ. พิสมัย ยืนยาว)

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. ลำปาง แม่นมาตย์)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. อนันต์ พลธานี)
คณบดีคณะเกษตรศาสตร์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยขอนแก่น

อภิรดี สวรรค์นคร. 2554. *อิทธิพลของชนิด SERUM ต่อการแสดงออกของโปรตีนอินเทอร์เฟียรอนทาว (IFN-τ) และ BCL-2 ในการผลิตเอ็มบริโอของโค.* วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รศ.ดร. ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์, รศ.ดร. กนกวรรณ จารุกำจร, ผศ. พิสมัย ยืนยาว

บทคัดย่อ

209136

วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของชนิด serum ต่อการแสดงออกของโปรตีน IFN-τ และ BCL-2 ในการผลิตเอ็มบริโอของโค โดยเก็บรังไข่จากโรงฆ่าสัตว์ในจังหวัดขอนแก่น (n=54) นำมาเจาะดูดโอโอไซต์จากฟอลลิเคิล แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม (น้อยกว่า 3 และ 3-8 มิลลิเมตร) และนำเอาโอโอไซต์ที่มีคุณภาพดี และปานกลางมาเพาะเลี้ยงใน TCM-199 ภายในสภาวะอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 99 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ประเมินการเจริญพร้อมปฏิสนธิของโอโอไซต์ทางสัณฐานวิทยาผ่านทางกล้องจุลทรรศน์ โอโอไซต์ที่เจริญพร้อมปฏิสนธิทั้งสามกลุ่มในการปฏิสนธิในจานเพาะเลี้ยงโดยใช้น้ำยา Fert-TALP ที่เสริมด้วยชนิดของ serum ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ BSA 10 เปอร์เซ็นต์, FCS 10 เปอร์เซ็นต์, และ ECS 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยแต่ละกลุ่มของชนิด serum ที่ใช้ในการเสริมในน้ำยาปฏิสนธิในจานเพาะเลี้ยง ประกอบด้วยโอโอไซต์ 10 ใบ เติมอสุจิที่ความเข้มข้น $1.0x10^6$ เพื่อปฏิสนธิภายนอกร่างกาย นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 38.5 องศาเซลเซียส ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ และ ความชื้น 99 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 ชั่วโมง ประเมินอัตราการปฏิสนธิ จากนั้นเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอต่อไปอีกเป็นเวลา 5 วัน ศึกษาอัตราการแบ่งตัวของเอ็มบริโอในแต่ละระยะ (ระยะ 4-8 เซลล์ ระยะมอรูล่า และระยะบลาสโตซีสตามลำดับ) โดยบันทึกในวันที่ 3, 4 และ 5 ตามลำดับ แช่แข็งเอ็มบริโอ และเก็บเอ็มบริโอที่อุณหภูมิ -196 องศาเซียลเซียส สุ่มตัวอย่างเอ็มบริโอที่แช่แข็งจากทุกทรีทเมนต์เพื่อมาสกัด RNA และนำตัวอย่าง RNA เพื่อมา reverse transcription จนกระทั่งได้ cDNA และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ศึกษาปริมาณของ mRNA ของโปรตีน IFN-τ และ BCL-2 ในตัวอย่างเอ็มบริโอด้วยวิธี quantitative real-time RT-PCR

จากการศึกษาพบว่าความสามารถในการเก็บได้ของโอโอไซต์จากฟอลลิเคิลขนาด 3-8 มิลลิเมตร สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับฟอลลิเคิลขนาดเล็กกว่า 3 มิลลิเมตร เปอร์เซ็นต์การเจริญพร้อมปฏิสนธิของโอโอไซต์ในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงด้วย TCM-199

209136

เสริมด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ FCS, 10 เปอร์เซ็นต์ ECS, 10 เปอร์เซ็นต์ BSA, และกลุ่มควบคุม มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ (P>0.05) (54.7, 51.2, 50.0, และ 42.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) และเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิของเอ็มบริโอในกลุ่มที่เสริมด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ FCS, 10 เปอร์เซ็นต์ ECS, 10 เปอร์เซ็นต์ BSA, และกลุ่มควบคุม มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ (P>0.05) (41.2, 41.2, 41.1, และ 38.2 เปอร์เซ็นต์ ตา มลำดับ) นอกจากนี้ เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของเอ็มบริโอในระยะระยะ 4-8 เซลล์ ที่เสริมด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ FCS, 10 เปอร์เซ็นต์ BSA, และ 10 เปอร์เซ็นต์ ECS สูงกว่ากลุ่มควบคุม (100.0, 98.3, 94.3, และ 35.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) และระยะมอรูลาในกลุ่มที่เซลล์ในกลุ่มที่เสริมด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ FCS, 10 เปอร์เซ็นต์ BSA, และ 10 เปอร์เซ็นต์ ECS สูงกว่ากลุ่มควบคุม (8.6, 7.4, 5.7, และ 0.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) ปริมาณ mRNA ของ IFN-τ และ BCL-2 ในการผลิตเอ็มบริโอของโคในแต่ละทรีทเมนต์มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ (P>0.05) แม้ว่าในการศึกษาครั้งนี้การเสริมชนิดของ serum ไม่มีผลต่อการแสดงออกของโปรตีน IFN-τ และ BCL-2 แต่อย่างไรก็ตามการเสริมชนิดของ serum ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเอ็มบริโอและการผลิตเอ็มบริโอของโคภายนอกร่างกาย

Apiradee Swannakorn. 2011. ***Effect of serum type on Interferon-Tau (IFN-τ) expression and BCL-2 in bovine embryo production.*** Master of Science Thesis in Animal Science, Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisors: Assoc.Prof.Dr. Chainarong Navanukraw,
Assoc.Prof.Dr. Kanokwan Jarukamjorn,
Asst.Prof. Pissamai Yuenyao

ABSTRACT

209136

The study was conducted to determine the effect of serum type on Interferon-Tau (IFN-τ) and BCL-2 expression in bovine embryos production. Bovine ovaries (n=54) were obtained at a local slaughterhouse in Khon Kaen province. Aspirated oocytes from follicle were classified into 2 groups (<3 and 3-8 mm). The good quality and fair quality oocyte were cultured in TCM-199 24 h at 37 °C, 5% CO_2 and 99% relative humidity for 24 h. Evaluation of the mature oocytes was also morphologically determined using stereomicroscope. Three groups of matured oocytes were placed in Fert-TALP medium supplemented with serum type as treatments (10% BSA, 10% FCS, and 10% ECS, respectively). Within each of the three droplets of fertilization medium containing 10 oocytes, $1.0x10^6$ sperm were added for in vitro fertilization and incubated at 38.5 °C, 5% CO_2 and 99% relative humidity for 20 h prior to examination. Fertilization rates were evaluated and then cultured in one of embryos in one of three treatments for 5 days. Cleavage rate of embryos (4-8 cell, morula, and blastocyst stage, respectively) were recorded on days 3, 4, and 5, respectively, after embryo culture. Then, embryo samples were freezed and stored at -196 °C. Frozen embryo samples were randomly extracted for total cellular RNA. RNA samples were used for cDNA synthesis using a reverse transcription. cDNA samples were stored at -20 °C. A relative abundance mRNA of IFN-τ and BCL-2 was determined by a quantitative real-time RT-PCR.

The recovery rates of oocytes and the percentage of healthy oocytes in 3-8 mm. follicle were significantly greater than <3 mm. follicle ($P<0.01$). Percentages of mature oocyte in TCM-199 supplemented with 10% FCS, 10% ECS, 10% BSA, and the control group (54.7, 51.2, 50.0, and 42.9%, respectively) were not significantly different

209136

(P>0.05). Percentage of embryos fertilization in the group of with 10% FCS, 10% ECS, 10% BSA, and the control group (41.2, 41.2, 41.1, and 38.2%, respectively) were not significantly different (P>0.05). In addition, cleavage rates of 4-8 cell supplemented with 10% FCS, 10% ECS, 10% BSA were significantly greater than (P<0.01) control embryos (41.2, 41.2, 41.1, and 38.2%, respectively) and morula supplemented with 10% FCS, 10% ECS, 10% BSA were significantly greater than (P<0.01) control embryos (8.6, 7.4, 5.7, and 0.0%, respectively). Relative abundance mRNA of IFN-τ and BCL-2 expression in the embryos cultured were not significantly different (P>0.05). Although, in this study, serum types were not affected IFN-τ and BCL-2 mRNA expression, the serum types on the cleavage rate of embryos and in vitro embryos production.

งานวิทยานิพนธ์นี้มอบส่วนดีให้บุพการีและคณาจารย์

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดีด้วยความกรุณาจากประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์ ผู้ให้คำปรึกษาแนะนำทั้งในด้านการเรียน การเขียนโครงการสนับสนุนของบประมาณทำการวิจัย การทำงานวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์ การนำเสนอผลงานทางวิชาการทั้งในและต่างประเทศ ตลอดจนเป็นกำลังใจสำคัญในการศึกษาวิจัย ให้แนวคิดข้อพึงปฏิบัติอันดีงามทั้งในด้านวิชาการและการดำรงชีวิต อีกทั้งให้ความกรุณาเอาใจใส่ดูแลตลอดจนสำเร็จการศึกษา ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ จารุกำจร กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางในการเขียน และการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ พิสมัย ยืนยาว กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางในการเขียน และการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภาวดี ภักดี ประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ที่ให้คำแนะนำในการสอบรวมถึงการแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. กัญจนะ มากวิจิตร์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอก ที่ได้ให้คำแนะนำในการสอบวิทยานิพนธ์รวมถึงการแก้ไขวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาสัตวศาสตร์ ทุกท่านที่ได้ประสาทความรู้ และวิทยาการต่างๆ ตลอดช่วงระยะเวลาของการศึกษา วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่ง จากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สบว.) สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการและศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยภายใต้โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำปี 2551 (TRF-MAG WindowII 515S063) ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรอาหารสัตว์เขตร้อน (TROFREC) และทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา ประจำปีงบประมาณ 2553 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายผลอันดีงามซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์แก่สังคม ที่เกิดจากการศึกษาวิทยานิพนธ์นี้ ขอมอบแด่คุณพ่อและคุณแม่ที่เคารพยิ่ง และขอขอบคุณนักศึกษาระดับปริญญาโท-เอก ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นทุกท่าน ซึ่งทุกคนล้วนเป็นกำลังใจและให้ความช่วยในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี หากมีข้อบกพร่องด้วยประการใดผู้วิจัยขอน้อมรับไว้ด้วยความขอบคุณยิ่ง

อภิรดี สวรรค์นคร

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
คำอุทิศ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฏ
รายการสัญลักษณ์และคำย่อ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานทดลอง	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 การพัฒนาการของเอ็มบริโอระยะแรก	3
2.1.1 การพัฒนาการเซลล์สืบพันธุ์ทั้งสองภายในชั้นโซนา เพลลูซิดา	3
2.1.2 การพัฒนาการของบลาสโตซีสออกมาจากชั้นโซนา เพลลูซิดา	4
2.1.3 การพัฒนาของโครงสร้างเมมเบรนพิเศษ	5
2.2 การยอมรับการตั้งท้อง	6
2.3 การฝังตัวของเอ็มบริโอในสัตว์เคี้ยวเอื้อง	8
2.4 อินเทอร์เฟียรอน (Interferon; IFN)	10
2.4.1 Interferon tau (IFN-τ) ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง	12
2.4.2 กลไกการส่งสัญญาณของจีน IFN-τ	13
2.4.3 กลไกทางชีววิทยาของ IFN-τ ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง	15
2.4.4 อิทธิพลของการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอต่อการพัฒนาของเอ็มบริโอ และการแสดงออกของจีน IFN-τ	17
2.5 การตายของเซลล์ (Cell death)	18
2.5.1 การตายของเซลล์แบบนีโครซิส	18
2.5.2 การตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส	20
2.6 การตายแบบอะพอพโตซีสของเซลล์เอ็มบริโอที่พัฒนา	21

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.7 โปรตีน BCL-2	22
2.8 อิทธิพลของโปรตีน BCL-2 ต่อการเกิดการตายแบบอะพอพโตซิส	24
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	26
3.1 แผนการวิจัย	26
3.2 วิธีการทดลอง	27
3.3 การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ	28
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	35
3.5 สถานที่ทำการวิจัย/ เก็บข้อมูล	36
3.6 ระยะเวลาทำการวิจัย	36
บทที่ 4 ผลการทดลอง	37
4.1 ผลของขนาดฟอลลิเคิลต่อความสามารถในการเก็บโอโอไซต์	37
4.2 ผลของการเสริมชนิดของ serum ในสูตรน้ำยาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ ต่อการพัฒนาพร้อมปฏิสนธิของโอโอไซต์ของเอ็มบริโอภายนอกร่างกาย	39
4.3 ผลของการเสริมชนิดของ serum ในสูตรน้ำยาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ ต่อการปฏิสนธิและการเจริญเติบโตของเอ็มบริโอภายนอกร่างกาย	40
4.4 ผลของการเสริมชนิดของ serum ในสูตรน้ำยาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ ต่อปริมาณ mRNA ของจีน IFN-τ ในโค	41
4.5 ผลของการเสริมชนิดของ serum ในสูตรน้ำยาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ ต่อปริมาณ mRNA ของจีน BCL-2 ในโค	43
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง	45
5.1 ผลของขนาดฟอลลิเคิลต่อความสามารถในการเก็บโอโอไซต์	45
5.2 ผลของการเสริมชนิดของ serum ในสูตรน้ำยาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ ต่อการพัฒนาพร้อมปฏิสนธิของโอโอไซต์ของเอ็มบริโอภายนอกร่างกาย	46
5.3 ผลของการเสริมชนิดของ serum ในสูตรน้ำยาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ ต่อการปฏิสนธิและการเจริญเติบโตของเอ็มบริโอภายนอกร่างกาย	47
5.4 ผลของการเสริมชนิดของ serum ในสูตรน้ำยาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ ต่อปริมาณ mRNA ของจีน IFN-τ ในโค	48
5.5 ผลของการเสริมชนิดของ serum ในสูตรน้ำยาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ ต่อปริมาณ mRNA ของจีน BCL-2 ในโค	49

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	50
6.1 สรุปผลการทดลอง	50
6.2 ข้อเสนอแนะ	51
เอกสารอ้างอิง	52
ภาคผนวก	60
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ	61
ภาคผนวก ข ส่วนประกอบในการเตรียมน้ำยาเพาะเลี้ยงตัวอ่อน	69
ภาคผนวก ค วิธีการเตรียม Estrus cow serum (ECS)	71
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ปริมาณการแสดงออกของจีน IFN-τ และ BCL-2 โดยวิธี Quantitative Real-time RT-PCR	73
ภาคผนวก จ ใบรับรองจรรยาบรรณและมาตรฐานในการใช้สัตว์ทดลอง	77
ประวัติผู้เขียน	80

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2-1 ความแตกต่างของ IFN types I ชนิดต่าง ๆ (จำนวนนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโน) 11

ตารางที่ 2-2 การควบคุมของ IFN regulatory factor 1 บริเวณเยื่อบุโพรงมดลูกของผนังมดลูกในระยะตั้งท้องของโค 15

ตารางที่ 2-3 ผลของการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอต่อการแสดงออกทางสรีรวิทยาในระยะเวลาการพัฒนาของเอ็มบริโอ 17

ตารางที่ 2-4 การจำแนกกลุ่มของโปรตีน BCL-2 23

ตารางที่ 2-5 ผลการแสดงออกและการถูกยับยั้งของจีน BCL-2 ต่อการทำงานของรังไข่ในสัตว์ 25

ตารางที่ 3-1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีนอินเทอร์เฟียรอนทาว (IFN-τ) และ BCL-2 ในโค 34

ตารางที่ 4-1 ผลของขนาดฟอลลิเคิลต่อความสามารถในการเก็บโอโอไซต์ 37

ตารางที่ 4-2 ผลของการเสริมชนิดของ serum ในสูตรน้ำยาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอต่อการพัฒนาพร้อมปฏิสนธิของโอโอไซต์ของเอ็มบริโอภายนอกร่างกาย 39

ตารางที่ 4-3 ผลการเสริมชนิดของ serum ในสูตรสารการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอต่อการปฏิสนธิและการเจริญเติบโตของเอ็มบริโอภายนอกร่างกาย 40

ตารางภาคผนวก ข-1 ส่วนประกอบของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 70

ตารางภาคผนวก ข-2 ส่วนประกอบของน้ำยาเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ 70

ตารางภาคผนวก ง-1 การเตรียมสารละลายเจือจาง cDNA มาตรฐาน ของ IFN-τ 75

ตารางภาคผนวก ง-2 การเตรียมสารละลายเจือจาง cDNA มาตรฐาน ของ BCL-2 76

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2-1 การพัฒนาการของเอ็มบริโอภายในชั้นโซนา เพลลูซิดา 4

ภาพที่ 2-2 การพัฒนาการของบลาสโตซีสออกมาจากชั้นโซนา เพลลูซิดา 5

ภาพที่ 2-3 การส่งสัญญาณ IFN-τ ในการฝังตัวของเอ็มบริโอในสัตว์เคี้ยวเอื้อง 7

ภาพที่ 2-4 ระยะของการฝังตัวของเอ็มบริโอในสัตว์เคี้ยวเอื้อง 10

ภาพที่ 2-5 เปรียบเทียบโครงสร้างของ human IFN-α2b และ ovine IFN-τ 12

ภาพที่ 2-6 กลไกการส่งสัญญาณของ IFN-τ ในชั้นเยื่อบุโพรงมดลูกชั้น luminal epithelium และชั้น stroma และ glands 14

ภาพที่ 2-7 ความสัมพันธ์ระหว่างมดลูก ฮอร์โมน และการส่งสัญญาณ IFN-τ ในการยอมรับการตั้งท้อง 16

ภาพที่ 2-8 ลักษณะการตายของเซลล์แบบนีโครซิส และอะพอพโตซิส 19

ภาพที่ 2-9 กลไกการเกิดการตายของเซลล์ 21

ภาพที่ 2-10 แสดงสภาวะที่มีการตายแบบอะพอพโตซิสของเซลล์เอ็มบริโอที่พัฒนา 22

ภาพที่ 2-11 BCL-2 family 24

ภาพที่ 3-1 การเสริมชนิดของ serum ในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอนอกร่างกายของโค 26

ภาพที่ 3-2 โอโอไซต์ที่มีคุณภาพดี 27

ภาพที่ 3-3 โอโอไซต์ที่มีคุณภาพปานกลาง 27

ภาพที่ 4-1 โอโอไซต์คุณภาพดี (good) 37

ภาพที่ 4-2 โอโอไซต์คุณภาพปานกลาง (fair) 38

ภาพที่ 4-3 โอโอไซต์คุณภาพไม่ดี (poor) 38

ภาพที่ 4-4 โอโอไซต์ที่มีการพัฒนาการที่สมบูรณ์ 39

ภาพที่ 4-5 การแสดงออกของจีน IFN-τ จากการวิเคราะห์ Real-time RT-PCR 42

ภาพที่ 4-6 ผลการเสริมชนิดของ serum ในสูตรน้ำยาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอต่อการแสดงออกของจีน IFN-τ ในโค 42

ภาพที่ 4-7 การแสดงออกของจีน BCL-2 จากการวิเคราะห์ Real-time RT-PCR 43

ภาพที่ 4-8 ผลการเสริมชนิดของ serum ในสูตรน้ำยาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอต่อการแสดงออกของจีน BCL-2 ในโค 44

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพภาคผนวก ง-1 การวิเคราะห์ปริมาณของ mRNA ด้วยเครื่อง Chromo4™ Four-Color Real-Time Detector (Bio-Rad, Laboratories Inc. USA.) 74

ภาพภาคผนวก ง-2 กราฟการทดสอบความเข้มข้น Stock Conc. cDNA เจือจาง (281.25, 56.25 และ 28.125 ng/µl กับ Negative control) 74

ภาพภาคผนวก ง-3 กราฟ cDNA มาตรฐานการแสดงออกของจีน IFN-τ ของ Stock Conc. cDNA (2812.4 ng/µl) (ความเข้มข้น 56.25, 28.125, 5.625, 2.812, และ 0.281 ng/µl กับ Negative control) 75

ภาพภาคผนวก ง-4 กราฟมาตรฐานการแสดงออกของจีน BCL-2 (ความเข้มข้น 56.25, 28.125, 5.625, 2.812, 0.281 และ 0.056 ng/µl กับ Negative control) 76

รายการสัญลักษณ์และคำย่อ

BSA	คือ	Bovine serum albumin
BCL-2	คือ	B-cell lymphoma 2
cDNA	คือ	Complementary DNA
ECS	คือ	Estrus cow serum
FCS	คือ	Fetal calf serum
IFN-τ	คือ	Interferon tau
IVM	คือ	การเพาะเลี้ยงโอโอไซต์ให้เจริญพร้อมปฏิสนธิ
IVF	คือ	การปฏิสนธินอกร่างกาย
IVC	คือ	การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ
kDa	คือ	กิโลดัลตัน
μg/ml	คือ	ไมโครกรัม ต่อ ไมโครลิตร
mM	คือ	มิลลิโมลาร์
mRNA	คือ	Messenger ribonucleic acid
μl	คือ	ไมโครลิตร
μm	คือ	ไมโครเมตร
μg	คือ	ไมโครกรัม
ng/ml	คือ	นาโนกรัม ต่อ ไมโครลิตร
$PGF_{2\alpha}$	คือ	Prostaglandin $F_{2\alpha}$
SOF	คือ	Synthetic oviductal fluid
TCM-199	คือ	Tissue culture medium 199