บทคัดย่อ

T166336

ศึกษา Chimeric Chicken โดยการใช้ Embryonic Stem Cells 3 การทดลองคือ การทดลองที่ 1 ทำการตรวจสอบความเป็น ES cells ของเซลล์ตัวอ่อนไก่ตัวให้ที่อายุ 0 – 7 วัน โดยวิธีการย้อม alkaline phosphatase ใช้ตัวอ่อนทดลองจำนวน 72 ตัว โดยการทำให้เซลล์ตัวอ่อนแยกเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ ก่อนทำการย้อม alkaline phosphatase ผลการทดลองพบว่า เซลล์ตัวอ่อนที่อายุ 0 – 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์การติดสีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยเซลล์ตัวอ่อนที่อายุ 0 วัน มีเปอร์เซ็นต์การติดสีสูงที่สุดเท่ากับ 58.56% เซลล์ตัวอ่อนที่อายุ 6 วันมีเปอร์เซ็นต์การติดสีต่ำที่สุดเท่ากับ 40.00%

การทดลองที่ 2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิต chimeric chicken โดยแบ่งเป็น 3 การทดลองย่อยคือ (2.1) ศึกษาการเปิด – ปิดช่องบนเปลือกไข่ ใช้ไข่ 300 ฟอง โดยมีกลุ่มควบคุมคือ กลุ่มไม่เจาะช่องบนเปลือกไข่ กลุ่มทดลองคือ กลุ่มเจาะช่องบนเปลือกไข่ขนาด 0.5 x 0.5, 0.75 x 0.75 และ 1 x 1 ซม. แล้วปิดด้วย เปลือกไข่ตัด cover slip และแผ่นอะลูมิเนียม ผลการทดลองพบว่า การฟักออกของ ทุกกลุ่มแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยกลุ่มเจาะช่องเปลือกไข่ขนาด 0.75 x 0.75 ซม. แล้วปิดด้วยเปลือกไข่ตัดมีการฟักออกสูงที่สุดเท่ากับ 12/30 (40.00%) กลุ่มที่เจาะช่องเปลือกไข่ขนาด 0.75 x 0.75 ซม. แล้วปิดด้วย cover slip และกลุ่มที่เจาะช่องเปลือกไข่ขนาด 1 x 1 ซม. แล้วปิดด้วย cover slip และแผ่นอะลูมิเนียม มีการฟักออกต่ำสุด เท่ากับ 4/30 (13.33%) การทดลอง (2.2) ศึกษาปริมาณของ 10% FBS-DMEM ที่ฉีดเข้าไปยังจุดเจริญของตัวรับ ใช้ไข่ 420 ฟอง โดยมีกลุ่มควบคุม คือ กลุ่มเจาะช่องบนเปลือกไข่แต่ไม่ฉีด 10% FBS-DMEM กลุ่มทดลองคือ กลุ่มเจาะช่องบนเปลือกไข่และฉีด 10% FBS-DMEM ปริมาณตั้งแต่ 1 - 5 µl ผลการทดลองพบว่า การฟักออกของทุกกลุ่มแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยกลุ่มที่ฉีด 10% FBS-DMEM 3 µl มีการฟักออกสูงที่สุดเท่ากับ 10/60 (16.67%) กลุ่มที่ฉีด 10% FBS-DMEM 5 µl มีการฟักออกต่ำที่สุดเท่ากับ 7/60 (11.67%)

การทดลอง 2.3 ศึกษาจำนวนเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับการฉีดเข้าไปยังจุดเจริญของตัวรับ ใช้ไข่ทดลองจำนวน 700 ฟอง โดยมีกลุ่มควบคุมคือ กลุ่มเจาะช่องบนเปลือกไข่แต่ไม่ฉีดเซลล์ กลุ่มทดลองคือ กลุ่มเจาะช่องบนเปลือกไข่แล้วฉีดเซลล์ตั้งแต่ 400 800 1,600 2,400 และ 3,600 เซลล์ ผลการทดลองพบว่า การตายของตัวอ่อนทุกช่วงอายุในทุกกลุ่มแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยพบตัวอ่อนมีการพัฒนาไปสูงสุด ที่ช่วงอายุ 19 - 21 วัน แต่ไม่พบการฟักออกของตัวอ่อน

การทดลองที่ 3 ศึกษาวิธีตรวจสอบความเป็น chimerism ด้วยวิธีการ microsatellite โดยการทำ PCR เพื่อหา primers ที่ให้ลักษณะของ bands ที่สามารถแยกไก่ตัวให้ออกจากตัวรับได้ ผลการทดลองพบว่า primers ADL 145 และ ADL 111 สามารถแยกไก่ตัวให้คือ พ่อ D 1 และแม่ D 2 ออกจากไก่ตัวรับคือ พ่อ R 3 และแม่ R 21, R 23, R 28 และ R 30 ได้

ABSTRACT

TE 166336

A study on chimeric chicken using embryonic stem cells was divided into 3 experiments. In experiment 1, ES cells were tested by alkaline phophatase staining. A total of 72 0-7 day old chick embryos were harvested for embryonic cell identification by alkaline phophatase staining. Results showed significant differences ($P < 0.01$) in chicken embryonic cells among each day ages. The zero-day embryos showed highest alkaline phophatase staining (58.50%) while the six-day old embryos showed lowest alkaline phosphatase positive staining at 40.00%.

In experiment 2, optimum conditions for producing chimeric chicken were characterized in a trial divided into 3 sub - experiments. In experiment 2.1, the effect of windowing on 300 recipient eggs were tested using 10 groups of control and treatments. The control group was comprised of eggs without windowing. In the treatment groups, 0.5 x 0.5, 0.75 x 0.75 and 1 x 1 cm windows were cut on recipient eggs. Windowed eggs were closed using 3 different materials, i.e. cut eggshell, cover slip and aluminum foil. Results showed that hatchability for each group did not show any significant difference ($P > 0.05$). The lowest hatchabilities were found in 0.75 x 0.75 cm of windows covered with cover slip and in 1x1 cm window covered with cover slip and aluminum foil (13.33%). The highest hatchabilities were found in 0.75 x 0.75 cm window covered with cut eggshell (40.00%). Experiment 2.2 was a study on the injection of an optimum amount of 10% FBS-DMEM into germinal disc of recipient embryo. A total of 420 eggs were tested which were divided into 7 groups, i.e. without and with window and injected with 0, 1, 2, 3, 4 and 5 µl 10% FBS-DMEM. Hatchabilities of these treatments were not significantly different ($P > 0.05$), however, the group injected with 3 µl 10% FBS-DMEM showed the highest hatchability (16.67%) while the group with 5 µl 10% FBS-DMEM showed lowest hatchability (11.67%). In experiment 2.3, optimum cells quantity injected into germinal disc of recipient eggs was studied in 700 eggs that were divided into 7 groups, i.e. without and with window and with 0, 400, 800, 1,600, 2,400 and 3,600 cells injection. Results showed that most embryos developed into 19 - 21 days. The embryonic deaths were not significantly different in each groups ($P > 0.05$) and no embryos were hatched.

In experiment 3, tests for chimerism by microsatellite fingerprinting using PCR were studied. Microsatellite primers were characterized to distinguish donor from recipient. The result showed that primer ADL 111 and ADL 145 can be used to identify donor D 1 and D 2 from recipient R 3 R 21, R 23, R 28 and R 30.