

บทคัดย่อ

ถึงแม้ว่าในปัจจุบันนี้เทคโนโลยีการโคลนนิ่งจะสามารถผลิตโคได้สำเร็จก็ตาม แต่การผลให้ได้ตัวอ่อนที่มีคุณภาพตลอดจนได้ลูกเกิดนั้นยังคงมีปัจจัยหลายอย่างที่ทำให้ผลผลิตที่ได้มีอัตราที่ต่ำ ซึ่งปัจจัยหลักของเทคโนโลยีการโคลนนิ่งนั้นคือ การ reprogramming ที่ผิดปกติในตัวอ่อนโคลนนิ่ง ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงให้ความสนใจในการปรับปรุงการ reprogram ของตัวอ่อนโคลนนิ่งด้วยการทดสอบ trichostatin A (TSA), suberoylanilidehydroxamic acid (SAHA) และ Reversine ซึ่งสารกลุ่มดังกล่าวสามารถช่วยปรับปรุงการ reprogram ให้ดีขึ้นได้ ดังจะให้เห็นจากผลการทดลอง พบว่า ที่ความเข้มข้น 25 nM ของ TSA บ่มกับตัวอ่อนเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ความเข้มข้น 1 μ M ของ SAHA บ่มกับตัวอ่อนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง หรือใช้ความเข้มข้น 1 μ M ของ Reversine บ่มกับตัวอ่อนเป็นเวลา 6 ชั่วโมงหลังเชื่อมเซลล์ สามารถช่วยปรับปรุงตัวอ่อนโคโคลนนิ่งให้พัฒนาจนถึงระยะบลาสโตซิสต์ได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่า SAHA และ Reversine ยังช่วยให้การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับ pluripotency, epigenetic และ imprinted ของตัวอ่อนโคโคลนนิ่งใกล้เคียงกับตัวอ่อนที่ผลิตด้วยวิธีเด็กหลอดแก้ว ซึ่งสอดคล้องกับผลของการศึกษาการเติมหมู่อะเซทิลบนฮิสโตนโปรตีน ซึ่งพบว่าระดับของการเติมหมู่อะเซทิลบนโปรตีนฮิสโตน 4 ที่ตำแหน่ง 5 (H4K5) ในกลุ่ม SAHA และ Reversine เข้าสู่สภาวะปกติใกล้เคียงกับตัวอ่อนที่ผลิตด้วยวิธีปฏิสนธิในหลอดทดลอง ที่สำคัญในกลุ่ม Reversine สามารถผลิตลูกโคโคลนนิ่งได้สำเร็จ ซึ่งมีอัตราลูกเกิดสูงถึง 25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้บ่มใน Reversine ที่ได้ลูกโคโคลนนิ่งเกิดมา 11 เปอร์เซ็นต์

Abstract

Nowadays, it has been shown that bovine cloned embryos can undergo full term development. However, the developmental competence of reconstructed embryos is still low. One of the major obstacles of somatic cell nuclear transfer (SCNT) is incompleteness of epigenetic reprogramming. Interestingly, it has been reported that treating embryos with trichostatin A (TSA), suberoylanilidehydroxamic acid (SAHA) and Reversine can improve the completion of epigenetic reprogramming and thereby allowing the increased cloning efficiency. Thus, our study was undertaken to improve the development of bovine SCNT embryos by treatment of embryos with TSA, SAHA, and Reversine to investigate the relationship between histone acetylation status of embryos and developmental competence of SCNT embryos. Treatment of SCNT embryos with either 25 nM TSA for 12 h, 1 μ M SAHA for 6 h or 1 μ M Reversine for 6h after fusion could significantly improve embryo development to blastocyst stage. Meanwhile, SAHA and Reversine treatment could improve pluripotency, epigenetic and imprinted genes similar to *in vitro* fertilization (IVF) embryos. Importantly, SAHA and Reversine treatment significantly increased the level of H4K5 acetylation. Especially, the embryos treated with Reversine could get 25% full term development which is higher than the non-treated group that had only 11%.