

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญภาพ	ณ
สารบัญตารางภาคผนวก	ญ
สารบัญภาพภาคผนวก	ณ
บทที่ 1 บทนำ	
1. ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
3. ขอบเขตของงานวิจัย	3
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	
1. การพัฒนาของตัวอ่อนระยะก่อนฝังตัว	4
2. การคัดแบ่งครั้งตัวอ่อน	6
3. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความสำเร็จของการคัดแบ่งครั้งตัวอ่อน	13
4. การเลี้ยงตัวอ่อนคัดแบ่งครั้ง	27
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
1. ขั้นตอนการดำเนินงาน	34
2. วัสดุการทดลอง	35
3. วิธีการทดลอง	39
4. การวิเคราะห์ข้อมูล	52
5. สถานที่ทำการวิจัย	53
6. ระยะเวลาทำการวิจัย	53
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
1. จำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ คุณภาพตัวอ่อน และระยะการเจริญของตัวอ่อน	54
2. การศึกษาเบื้องต้น	57

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3. จำนวนตัวอ่อน คุณภาพ และระยะเวลาเจริญที่นำมาใช้ทำการศึกษา	57
4. ผลจากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน ระยะเวลาในการตัดแบ่งครั้ง และสัดส่วน จำนวนเซลล์ของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง	57
5. ผลของการเสริมสาร solcoseryl [®] ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน ต่ออัตราการ มีชีวิตรอดของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	67
6. ผลของระยะเวลาเจริญของตัวอ่อนที่นำมาตัดแบ่ง ต่อคุณภาพของตัวอ่อน ตัดแบ่งครั้ง และอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งหลังจากเลี้ยง ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	69
7. ผลของคุณภาพของตัวอ่อนก่อนตัดแบ่งครั้งต่ออัตราการมีชีวิตรอดของ ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	73
บทที่ 5 วิจัยผลการทดลอง	
1. ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน	76
2. ผลของการเสริมสาร solcoseryl [®] ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน ต่ออัตราการ มีชีวิตรอดของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง	81
3. ปัจจัยที่มีผลต่อการพัฒนาของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้ง	82
สรุปผลการทดลอง	87
ข้อเสนอแนะ	88
เอกสารอ้างอิง	89
ภาคผนวก	100
ภาคผนวก ก. : ตารางต่างๆ	101
ภาคผนวก ข. : ภาพต่างๆ	121
ประวัติผู้เขียน	129

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 การใช้ยาตัดแบ่งตัวอ่อนในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน	9
ตารางที่ 2 การตัดแบ่งตัวอ่อนโดยใช้น้ำตาลซูโครสลงในน้ำยาที่ใช้ตัดแบ่งตัวอ่อน	11
ตารางที่ 3 การตัดแบ่งตัวอ่อนโดยการทำรอบปากที่พื้นจานตัดแบ่งตัวอ่อน	12
ตารางที่ 4 การศึกษาการตัดแบ่งตัวอ่อนในแพะ	14
ตารางที่ 5 ระยะเวลาที่ใช้ตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน	25
ตารางที่ 6 ระยะการเจริญและคุณภาพของตัวอ่อนแพะที่ได้จากการเก็บตัวอ่อน	55
ตารางที่ 7 ตัวอ่อนแพะระยะการเจริญต่างๆ ที่นำมาใช้ในการศึกษาการเลี้ยงตัวอ่อนแพะ ตัดแบ่งครั้งในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนที่เสริมด้วยสาร solcoseryl®	58
ตารางที่ 8 ผลของระยะการเจริญของตัวอ่อนต่อระยะเวลาที่ใช้ในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน และคุณภาพของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	62
ตารางที่ 9 ผลของระยะการเจริญของตัวอ่อนต่อสัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อน ตัดแบ่งครั้งที่ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน	64
ตารางที่ 10 ผลของระยะการเจริญของตัวอ่อนต่อคุณภาพตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งหลังจาก เลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	70
ตารางที่ 11 ผลของคุณภาพตัวอ่อนก่อนตัดแบ่งครั้งต่ออัตราการมีชีวิตรอดของ ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งหลังจากเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	75

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1	แผนภาพแสดงขั้นตอนการศึกษากาเลียงตัวอ่อนแพะหลังการคั้ดแบ่งครั้ง ในอาหารเลียงตัวอ่อนที่เสริมด้วยสาร solcoseryl [®]	35
ภาพที่ 2	ภาพถ่ายตัวอ่อนแพะที่ระยะการเจริญและคุณภาพระดับต่างๆ (x140)	56
ภาพที่ 3	ภาพถ่ายตัวอ่อนคั้ดแบ่งครั้งที่ได้จากการคั้ดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะต่างๆ (x140)	60
ภาพที่ 4	ผลของระยะการเจริญของตัวอ่อนต่อระยะเวลาที่ใช้ในการคั้ดแบ่งครั้งตัวอ่อน	61
ภาพที่ 5	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนคั้ดแบ่งครั้ง ที่ได้จากตัวอ่อนระยะ blastocyst กับคุณภาพของตัวอ่อนคั้ดแบ่งครั้งหลังเลียง ในอาหารเลียงตัวอ่อน	66
ภาพที่ 6	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนคั้ดแบ่งครั้ง ที่ได้จากตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst กับคุณภาพของตัวอ่อนคั้ดแบ่งครั้ง หลังเลียงในอาหารเลียงตัวอ่อน	66
ภาพที่ 7	ผลของอาหารเลียงตัวอ่อนต่ออัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะคั้ดแบ่งครั้ง หลังเลียงในอาหารเลียงตัวอ่อน	68
ภาพที่ 8	ภาพถ่ายคุณภาพระดับต่างๆ ของตัวอ่อนคั้ดแบ่งครั้งหลังเลียงในอาหารเลียง ตัวอ่อน (x140)	71
ภาพที่ 9	ผลของระยะการเจริญของตัวอ่อนต่ออัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนคั้ดแบ่งครั้ง หลังเลียงในอาหารเลียงตัวอ่อน	72
ภาพที่ 10	ภาพตัวอ่อนคั้ดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะต่างๆ หลังจากเลียงในอาหาร เลียงตัวอ่อน (x140)	74

สารบัญตารางภาคผนวก

	หน้า
ตารางผนวกที่ 1 ส่วนประกอบของน้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อน	102
ตารางผนวกที่ 2 ส่วนประกอบของน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนชนิด TCM-199	102
ตารางผนวกที่ 3 ส่วนประกอบของน้ำยาเก็บรักษาตัวอ่อนชนิด DPBS (holding medium)	103
ตารางผนวกที่ 4 การศึกษาเบื้องต้นถึงผลของอาหารเลี้ยงตัวอ่อนต่อความสามารถ ในการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครึ่ง	104
ตารางผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาที่ใช้ในการตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อน ระยะต่างๆ	104
ตารางผนวกที่ 6 การทดสอบ Chi-square ของอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะ ตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากการตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนระยะ morula เมื่อเลี้ยงใน อาหารสูตรต่างกัน	105
ตารางผนวกที่ 7 การทดสอบ Chi-square ของอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะ ตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากการตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนระยะ early blastocyst เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างกัน	106
ตารางผนวกที่ 8 การทดสอบ Chi-square ของอัตราการมีชีวิตรอดของของตัวอ่อนแพะ ตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากการตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนระยะ blastocyst เมื่อเลี้ยง ในอาหารสูตรต่างกัน	107
ตารางผนวกที่ 9 การทดสอบ Chi-square ของอัตราการมีชีวิตรอดของของตัวอ่อนแพะ ตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากการตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างกัน	108
ตารางผนวกที่ 10 การทดสอบ Chi-square ของอัตราการมีชีวิตรอดของของตัวอ่อนแพะ ตัดแบ่งครึ่งที่ได้จากการตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนระยะ hatched blastocyst เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างกัน	109
ตารางผนวกที่ 11 การทดสอบ Chi-square ผลของการตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนที่ได้จาก ตัวอ่อนระยะต่างๆ ต่ออัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครึ่ง เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	110

สารบัญตารางภาคผนวก (ต่อ)

หน้า

ตารางผนวกที่ 12	การทดสอบ Chi-square เปรียบเทียบอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อน แพะตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ morula คุณภาพระดับดีเยี่ยม และดีหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	111
ตารางผนวกที่ 13	การทดสอบ Chi-square เปรียบเทียบอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อน แพะตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ early blastocyst คุณภาพระดับ ดีเยี่ยม และดี หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	112
ตารางผนวกที่ 14	การทดสอบ Chi-square เปรียบเทียบอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อน แพะตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ blastocyst คุณภาพระดับ ดีเยี่ยมและดี หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	113
ตารางผนวกที่ 15	การทดสอบ Chi-square เปรียบเทียบอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อน แพะตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst คุณภาพ ระดับดีเยี่ยม และดี หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	114
ตารางผนวกที่ 16	การทดสอบ Chi-square เปรียบเทียบอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อน แพะตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ hatched blastocyst คุณภาพระดับ ดีเยี่ยม และดี หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	115
ตารางผนวกที่ 17	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลของคุณภาพตัวอ่อนแพะ ตัดแบ่งครั้งที่ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ morula ต่อคุณภาพ ของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	116
ตารางผนวกที่ 18	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณภาพตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งที่ ได้จากการ ตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ early blastocyst ต่อคุณภาพ ของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	116
ตารางผนวกที่ 19	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณภาพ ตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งที่ ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ blastocyst ต่อคุณภาพของ ตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	117
ตารางผนวกที่ 20	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณภาพตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งที่ ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst ต่อ คุณภาพของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	117

สารบัญตารางภาคผนวก (ต่อ)

หน้า

ตารางผนวกที่ 21	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของคุณภาพตัวอ่อนแช่ดัดแบ่งครั้งที่ ที่ได้จากการดัดแบ่งครั้งที่ตัวอ่อนระยะ hatched blastocyst ต่อคุณภาพ ของตัวอ่อนแช่ดัดแบ่งครั้งที่หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	118
ตารางผนวกที่ 22	การวิเคราะห์ความแปรปรวนระยะเวลาที่ใช้ในการดัดแบ่งครั้งที่ตัวอ่อน ระยะ morula ต่อคุณภาพของตัวอ่อนแช่ดัดแบ่งครั้งที่หลังเลี้ยง ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	118
ตารางผนวกที่ 23	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะเวลาที่ใช้ในการดัดแบ่งครั้งที่ ตัวอ่อนระยะ early blastocyst ต่อคุณภาพของตัวอ่อนแช่ ดัดแบ่งครั้งที่หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	119
ตารางผนวกที่ 24	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะเวลาที่ใช้ในการดัดแบ่งครั้งที่ ตัวอ่อนระยะ blastocyst ต่อคุณภาพของ ตัวอ่อนแช่ดัดแบ่งครั้งที่ หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	119
ตารางผนวกที่ 25	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะเวลาที่ใช้ในการดัดแบ่งครั้งที่ ตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst ต่อคุณภาพของตัวอ่อนแช่ ดัดแบ่งครั้งที่หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	120
ตารางผนวกที่ 26	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะเวลาที่ใช้ในการดัดแบ่งครั้งที่ ตัวอ่อนระยะ hatched blastocyst ต่อคุณภาพของ ตัวอ่อนแช่ ดัดแบ่งครั้งที่หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	120

สารบัญภาพภาคผนวก

	หน้า
ภาพผนวกที่ 1 ขั้นตอนการชะล้างตัวอ่อนในเพาะ	122
ภาพผนวกที่ 2 ตัวอย่างการจำแนกโครงสร้างของตัวอ่อน	123
ภาพผนวกที่ 3 ตัวอย่างการจำแนกคุณภาพระดับต่างๆ ของตัวอ่อน	124
ภาพผนวกที่ 4 เทคนิคในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน	125
ภาพผนวกที่ 5 การตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ morula และ blastocyst	126
ภาพผนวกที่ 6 ตัวอย่างสัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนคัดแบ่งครั้งที่ได้จากการตัดแบ่งครั้ง	127
ภาพผนวกที่ 7 คุณภาพตัวอ่อนคัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน	128