

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

เทคโนโลยีชีวภาพที่นำมาใช้ในการผลิตปศุสัตว์เพื่อเพิ่มผลผลิต เช่น การย้ายฝากตัวอ่อน การคัดแยกเพศ การปฏิสนธิในห้องปฏิบัติการ การตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อน ได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย การตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อน (embryo splitting) เป็นเทคนิคหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มการผลิตสัตว์ที่มีพันธุกรรมดีและผลิตฝาแฝดเหมือน (identical twins) เพื่อใช้ในการทดลองด้านโภชนาศาสตร์ พันธุศาสตร์ การปรับปรุงพันธุ์ สรีรวิทยา สภาพแวดล้อม กัพภวิทยา เพราะฝาแฝดเหมือนมีลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนกัน การเพิ่มปริมาณลูกสัตว์ที่ได้จากการเก็บตัวอ่อนแต่ละครั้ง เป็นการใช้ประโยชน์จากสัตว์ตัวให้ (donor) ตัวรับ (recipient) และตัวอ่อนอย่างมีประสิทธิภาพ และยังสามารถนำวิธีการตัดแบ่งไปใช้ร่วมกับการคัดแยกเพศตัวอ่อน การแช่แข็งตัวอ่อน การโคลนนิ่งตัวอ่อน (embryo cloning) ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคในการตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนให้สามารถทำได้สะดวกและรวดเร็วขึ้น ซึ่งมีผลต่อการลดความสามารถมีชีวิตรอดของตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งน้อยมาก (Herr และ Reed, 1991)

การตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีการศึกษาในสัตว์หลายชนิด เช่น หนู สุกร ม้า โค แพะ แกะ กระต่าย ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในโค และแกะ และยังมีการนำมาใช้ในทางการค้าร่วมกับเทคโนโลยีย้ายฝากตัวอ่อนด้วย การศึกษาในแพะยังมีน้อยมาก การตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนที่ประสบความสำเร็จ คือ ตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่ง (demi-embryo) สามารถพัฒนาจนเป็นลูกสัตว์ ปัจจุบันที่มีผลต่อการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนที่ตัดแบ่งครึ่งคือ คุณภาพของตัวอ่อน ระยะการเจริญของตัวอ่อน สภาพแวดล้อมหรืออาหาร และเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงตัวอ่อนหลังตัดแบ่งครึ่ง (Nowshari และ Holtz, 1993; Reichelt และ Niemann, 1994) การมี zona pellucida (Reichelt และ Niemann, 1994) การแช่แข็งตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่ง (Shelton, 1992) เทคนิคในการตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อน (Szell และคณะ, 1994) วิธีการในการย้ายฝาก (Szell และ Hudson, 1991) ตัวรับ (Reichelt และ Niemann, 1994) การเคลื่อนย้ายหรือจัดการกับตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่ง (Brem และคณะ, 1984)

การเลี้ยงตัวอ่อนหลังจากตัดแบ่งครึ่งพบว่าทำให้อัตราการมีชีวิตรอดหรืออัตราการตั้งท้องดีขึ้น (Baker และคณะ, 1984; Hahn, 1984; Losskutoff และคณะ, 1993) Baker และ Shea (1985) รายงานว่าการเลี้ยงตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่ง ช่วยให้ตรวจสอบการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนได้ง่าย วิธีการที่

ใช้เลี้ยงตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งแตกต่างกันไป เช่น เลี้ยงใน Menezo B2 medium หรือ Ham's F-10 ร่วมกับเชือบุเซลล์ท่อน้ำไขของโค (Losskutoff และคณะ, 1993) เลี้ยงด้วย PBS ที่เสริมด้วยซีรัมจากลูกโค (fetal calf serum) 10 เปอร์เซ็นต์ (Yong และ Jianchen, 1990) เลี้ยงด้วย Whitten's medium ที่เสริมด้วยซีรัมจากลูกโค 20 เปอร์เซ็นต์และสาร solcoseryl® 0.1 เปอร์เซ็นต์ (Hahn, 1984) นอกจากนี้ยังมีการใช้สารเสริมเพื่อเพิ่มการพัฒนาของตัวอ่อน หรือตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง เช่น สารเร่งการเจริญเติบโต หรือ growth factors (Bielanski และ Hare, 1989; Bielanski และคณะ, 1989; Eberhardt และคณะ, 1994; Keefer และคณะ, 1994) สารที่ช่วยในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ (Hahn, 1984; Viker และคณะ, 1984; Reed และคณะ, 1987; Thuemmel และคณะ, 1989; Russler-Long และคณะ, 1991)

สารช่วยในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ เช่น solcoseryl® มีกลไกการออกฤทธิ์ทำให้แผลหายเร็วขึ้นและช่วยการซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่เสียหาย จากกลไกเหล่านี้น่าจะสามารถเพิ่มการพัฒนาของตัวอ่อนได้ จึงได้มีผู้นำสารที่ช่วยในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อนี้มาใช้ในการเลี้ยงตัวอ่อน และตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง (Hahn, 1984; Viker และคณะ, 1984; Reed และคณะ, 1987; Russler-Long และคณะ, 1991)

การศึกษาเกี่ยวกับการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนแพะและการเลี้ยงตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งยังมีน้อย รวมถึงมีการนำเทคนิคที่ไม่ยุ่งยากและใช้เวลาน้อยในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนมาใช้ การเลี้ยงตัวอ่อนหลังจากตัดแบ่งครั้งก่อนจะนำไปย้ายฝากสู่ตัวรับทำให้อัตราการมีชีวิตรอดสูงขึ้น และการใช้สารที่ช่วยในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อเสริมในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน ในการวิจัยครั้งนี้จึงได้ศึกษาวิธีการในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนของแพะโดยใช้เทคนิคที่ไม่ยุ่งยาก การเลี้ยงตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนที่เสริมด้วยสารช่วยในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ และปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการพัฒนาของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง เช่น ระยะเวลาการเจริญของตัวอ่อนที่นำมาตัดแบ่งครั้ง คุณภาพของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง เพื่อให้ทราบถึงวิธีการที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนของแพะ ตลอดจนปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการพัฒนาของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้ง

2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาผลของการเลี้ยงตัวอ่อนแพะหลังตัดแบ่งครั้งโดยการเสริมสารที่ช่วยในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ solcoseryl® ต่อความสามารถในการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง

2.2 ศึกษาถึงปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการพัฒนาของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้ง

3. ขอบเขตของงานวิจัย

ทำการศึกษาเพื่อให้ทราบผลของการเลี้ยงตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งของแพะต่ออัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งในสภาพการเลี้ยงที่เสริมด้วยสารที่ช่วยในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ solcoseryl[®] และปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความสามารถในการพัฒนาของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้ง

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

4.1 ทราบถึงผลของการเลี้ยงตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งของแพะในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนที่เสริมด้วยสารที่ช่วยในการซ่อมแซมของเนื้อเยื่อ solcoseryl[®]

4.2 ทราบถึงปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการพัฒนาของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้ง

4.3 เป็นข้อมูลพื้นฐานในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนในแพะ

4.4 เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเลี้ยงตัวอ่อนแพะหลังตัดแบ่งครั้ง และเป็นข้อมูลในการศึกษาหาวิธีการที่เหมาะสมในการเลี้ยงตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งของแพะให้มีการพัฒนาถึงระยะที่เหมาะสมในการนำไปย้ายฝาก เพื่อให้มีอัตราการมีชีวิตรอดสูงที่สุด ซึ่งอาจนำไปใช้ร่วมกับการแช่แข็งตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง หรือแช่แข็งตัวอ่อนที่ได้รับการตรวจสอบเพศให้มีประสิทธิภาพสูงสุด

4.5 สามารถนำผลการทดลองไปปรับใช้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนต่อไป