บทคัดย่อ

180433

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อหาแนวทางการเพิ่มปริมาณโคนมเพศเมียให้ได้สัดส่วนมากกว่าที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติโดยการคัดเพศตัวอ่อนโคเพศเมียก่อนที่จะทำการย้ายฝากโดยการคัดเพศจากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส และโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเอช-วายแอนติเจน (H-Y antigen) ที่ได้จากการฉีดน้ำเชื้อโคให้หนูขาวตัวเล็กสายพันธุ์ Balb/C เพื่อกระตุ้นการผลิตแอนติบอดีต่อเอช-วายแอนติเจน หนูที่ผลิตแอนติบอดีต่อเอช-วายเอนติเจนสูงสุดจะถูกเก็บเซลล์ม้ามมาเชื่อมกับเซลล์ไมอิโลมาสายพันธุ์ X63 Ag8.653 เพื่อผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเอช-วายแอนติเจน หลังการเชื่อมเซลล์ 14-21 วันได้ตรวจพบกลุ่มโคลนลูกผสม (Hybridoma clone) จำนวน 3 โคลนที่ตอบสนองต่อเอช-วายแอนติเจน เมื่อนำโคลนทั้ง 3 มาแยกเป็นโคลนเดี่ยวและจำแนกชนิดของอิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin) พบว่าทั้ง 3 โคลนเป็นชนิด IgG ส่วนการผลิตตัวอ่อน (embryo)ใช้แม่โคลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองxฟรีเชี่ยน (Friesian) จำนวน 12 ตัวมีระดับสายเลือดฟรีเชี่ยน 75–96.25 % ทำการกระตุ้นให้ตกไข่มาก (Superovulation) นำตัวอ่อนที่ผลิตได้มาตรวจเพศด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเอช-วายแอนติเจนโดยวิธี Indirect immunofluorescence และปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (Polymerase chain reaction, PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ (primer) ชนิด BOVM97 ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเฉพาะโครโมโซม Y พบว่าการตกไข่และตัวอ่อนแสดงเป็นค่า mean±SD (n) มีการตกไข่ของรังไข่ด้านซ้าย, ขวา และจำนวนตัวอ่อนเป็น 5.6±3.06 (12), 5.8±3.67 (12) และ 1.8±2.21 (12), ตามลำดับ ตัวอ่อน จำนวน 9 ตัว ให้ผลการคัดเพศด้วยวิธี PCR เป็นเพศเมีย 8 ตัวและเพศผู้ 1 ตัว และ ตัวอ่อนอีกกลุ่มจำนวน 7 ตัว เมื่อนำมาตรวจด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเอช-วายเอนติเจน พบว่า 6 ตัวให้ผลบวก (เป็นเพศผู้) ซึ่งเมื่อนำไปตรวจโดยเทคนิค PCR เป็นเพศผู้เพียง 5 ตัว ฉะนั้นโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเอช-วายเอนติเจนที่ผลิตได้จากการทดลองครั้งนี้ ให้ความแม่นยำในการตรวจเพศผู้ของตัวอ่อนได้ 83 % (5/6) เมื่อยืนยันผลด้วยเทคนิค PCR

Abstract

180433

The objective of this research is to do sexing cow's embryos by Monoclonal Antibody (MAb) to H-Y antigen and Polymerase Chain Reaction (PCR). The MAb was produced by hybridoma techniques by the used of cattle spermatozoa as antigen to immunize 6 Balb/c mice. The mice which manifested high antibody titer to the H-Y antigen were detected by Enzyme - Linked Immunosorbent Assay (ELISA), were chosen as sources of spleenocytes. The spleenocytes from a mouse that showed the highest titer, were used for fusion with myeloma cells (X63Ag8.653) for the production of the hybridomas. At 14 – 21 days after fusion, hybridoma clones were found 3 wells were identified to be positive clones. When the three clonals were separated and immunoglobinal categorized, they all were Igs. Embryo was made by using the twelve 75-96.25% crossed Friesian cows superovulated. Then sexing verification by Monoclonal antibody to H-Y antigen (MAb), Indirected immunoflurescence method, and by Polymerase Chain Reaction (PRC) that used BOVM97 primer which was specific to Y chromosome. It was found that ovulation of left and right ovaries and number of embryo according to mean $\pm$ SD (n) were 5.6$\pm$3.06 (12), 5.8$\pm$3.67 (12) and 1.8$\pm$2.21 (12) respectively. The result of sexing 9 embryos by PCR technique was eight female and one male. Another group contained 7 embryos were verified by Monoclonal antibody to H-Y antigen (MAb) resulted that 6 were positive (male) whereas the PRC technique verification result was just 5 were male. In conclusion, MAb's to H-Y antigen using to sexing in accordance with this study is 83% accurate when benchmarking by PCR technique.