

จันทร์เจ้า สือทองพานิชย์ : การโคลนนิ่งตัวอ่อนแมวโดยใช้เซลล์ไฟโบรบลาสต์จากไข่มุและเซลล์แกรนูโลซาเป็นเซลล์ต้นแบบ (CLONING OF CAT EMBRYOS BY USING EAR FIBROBLAST CELLS AND GRANULOSA CELLS AS DONOR CELLS)

อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย, 62 หน้า ISBN 974-533-235-6

เมื่อนำรังไข่ของแมวที่ฉีดด้วย eCG และกลุ่มควบคุมมาเก็บโอโอไซท์สามารถเก็บได้ 20.1 ± 19.2 ใบ/ตัว และ 7.1 ± 8.3 ใบ/รังไข่ โอโอไซท์ที่เก็บจากรังไข่ของแมวที่ฉีดด้วย eCG และกลุ่มควบคุมเมื่อนำมาเลี้ยงในหลอดแก้วมีอัตราการเจริญเต็มที่ 62.7 ± 4.6 และ $37.6 \pm 10.7\%$ จากการนำไข่เจริญเต็มที่มากระตุ้นด้วย 7%Et-OH + CHX-CD หรือ CHX-CD เพียงอย่างเดียว ได้ตัวอ่อนเจริญถึงระยะบลาสโตซิสต์ 12.9 และ 16.4% ตามลำดับ ค่ากระแสไฟฟ้าที่เหมาะสมในการเชื่อมไซโตพลาสแมวเข้ากับเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากไข่มุคือ 2DC, 30V, 30 μ sec ซึ่งให้อัตราการเชื่อม $68 \pm 6.8\%$ จากนั้นใช้เซลล์ไฟโบรบลาสต์จากไข่มุและเซลล์แกรนูโลซาเป็นเซลล์ต้นแบบในการโคลนนิ่งและทดสอบการกระตุ้นด้วยน้ำยา 2 ชนิด จากการทดลองพบว่ากระตุ้นด้วย 7%Et-OH + CHX-CD ได้ตัวอ่อนเจริญถึงระยะมอรูลาและบลาสโตซิสต์สูงกว่าที่กระตุ้นด้วย CHX-CD อย่างเดียวในเซลล์ต้นแบบทั้ง 2 ชนิด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าอัตราการเจริญเต็มที่ของโอโอไซท์ที่เก็บจากรังไข่แมวที่ฉีดด้วย eCG สูงกว่าที่เก็บจากรังไข่กลุ่มควบคุม การเจริญเติบโตในหลอดแก้วถึงระยะมอรูลาและบลาสโตซิสต์จากการโคลนนิ่งด้วยเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากไข่มุและเซลล์แกรนูโลซาในกลุ่มที่กระตุ้นด้วย 7%Et-OH + CHX-CD มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่กระตุ้นด้วย CHX-CD อย่างเดียว

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2545

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

CHANCHAO LORTHONGPANICH : CLONING OF CAT EMBRYOS
BY USING EAR FIBROBLAST CELLS AND GRANULOSA CELLS
AS DONOR CELLS.

THESIS ADVISOR : RANGSUN PARNPAI, Ph.D. 62 PP

ISBN 974-533-235-6

The average number of cat oocytes collected from ovaries of eCG stimulated donor and control group was 20.1 ± 19.2 oocytes/queen and 7.1 ± 8.3 oocytes/ovary. The *in vitro* maturation rate of cat oocytes collected from ovaries of eCG stimulated donor and control group was 62.7 ± 4.6 and $37.6 \pm 10.7\%$. The parthenogenetic embryos developed to blastocyst stage of matured oocytes treated with 7%Et-OH + CHX-CD and CHX-CD was 12.9 and 16.4%. The optimum fusion parameter of cat cytoplasts with ear fibroblast cells was 2DC, 30V, 30 μ sec which gave $68 \pm 6.8\%$ fusion rate. The ear fibroblast and granulosa cells were used as donor cells for cloning and testing with 2 activation treatments. It was found that the treatment with 7%Et-OH + CHX-CD gave higher morulae and blastocysts rate than those with CHX-CD alone in both donor cells types, but there were not significantly different. In conclusion, the maturation rate of oocytes from eCG treated was higher than control. The *in vitro* development to morula and blastocyst stage of reconstructed embryos with ear fibroblast cell and granulosa cells treated with 7%Et-OH + CHX-CD was higher than CHX-CD alone.

School of Biotechnology

Student.....

Academic year 2002

Advisor.....

Co-advisor.....

Co-advisor.....