บทคัดย่อ

การเก็บแยกเซลล์จากตัวอ่อนโคเป็นสิ่งที่ทำเพื่อนำเซลล์ที่เก็บได้ไปตรวจเพศตัวอ่อน หรือนำไปทำ genomic sequencing ก่อนนำไปย้ายฝากให้โคตัวรับ การเก็บแยกเซลล์จากตัวอ่อนต้องใช้วิธีที่ไม่ทำให้เซลล์ตัวอ่อนเสียหาย และสามารถนำไปแช่แข็งต่อได้ การทดลองเก็บแยกเซลล์จากตัวอ่อนโครระยะ บลาสโตซีสต์ที่ผลิตในหลอดแก้วโดยใช้ Microblade และ Piezo-driven พบว่าการเก็บแยกเซลล์จากตัวอ่อนที่ 5 และ 10% จากจำนวนเซลล์ทั้งหมดของตัวอ่อน ไม่ส่งผลต่ออัตราการเจริญของตัวอ่อนถึงระยะแฮชบลาสโตซีสต์ แต่คุณภาพของตัวอ่อนก่อนการเก็บแยกเซลล์จะส่งผลต่ออัตราการเจริญของตัวอ่อน โดยตัวอ่อนเกรด 1 ที่เก็บแยกเซลล์โดยใช้ทั้ง 2 วิธีออกไป 5 หรือ 10% มีอัตราการเจริญถึงระยะแฮชบลาสโตซีสต์ใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เก็บแยกเซลล์ ในขณะที่ตัวอ่อนเกรด 2 ที่เก็บแยกเซลล์ด้วย Microblade ออกไป 10% จะส่งผลต่อการเจริญของตัวอ่อนถึงระยะแฮชบลาสโตซีสต์ ในขณะที่การเก็บด้วย Piezo-driven ที่ตัดออก 5 และ 10% ไม่ส่งผลต่ออัตราการเจริญของตัวอ่อนถึงระยะแฮช บลาสโตซีสต์ทั้งในกลุ่มตัวอ่อนเกรด 1 และ 2

ตัวอ่อนเกรด 1 ที่ไม่ผ่านการเก็บแยกเซลล์และนำไปแช่แข็งด้วยวิธี vitrification โดยใช้ Cryotop และ 0.25 ml straw ให้อัตราการเจริญถึงระยะแฮชบลาสโตซีสต์ดีกว่าเกรด 2 ส่วนตัวอ่อนที่ไม่ผ่านการแช่แข็งเกรด 1 มีอัตราการเจริญถึงระยะแฮชบลาสโตซีสต์สูงกว่าตัวอ่อนเกรด 2 เล็กน้อย แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตัวอ่อนเกรด 2 ที่แช่แข็งโดยใช้ Cryotop มีอัตราเจริญถึงระยะบลาสโตซีสต์สูงกว่าที่แช่แข็งโดยใช้ 0.25 ml straw แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการเก็บแยกเซลล์ตัวอ่อนในการทดลองแรกโดยใช้ Microblade และ Piezo-driven พบว่าการใช้ Piezo-driven ให้อัตราการเจริญของตัวอ่อนดีกว่าการใช้ Microblade จึงใช้ Piezo-driven เก็บแยกเซลล์ตัวอ่อน แล้วนำตัวอ่อนไปแช่แข็งด้วยวิธี vitrification โดยใช้ Cryotop และ 0.25 ml straw แล้วศึกษาอัตราการเกิด apoptosis พบว่าตัวอ่อนกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเก็บเซลล์และไม่มีการแช่แข็งทั้งเกรด 1 และ 2 มีอัตราการเกิด apoptosis ต่ำที่สุด และไม่แตกต่างจากกลุ่มที่เก็บแยกเซลล์ตัวอ่อนและไม่มีการแช่แข็งทั้งเกรด 1 และ 2 สำหรับกลุ่มไม่มีการเก็บเซลล์และแช่แข็งโดยใช้ Cryotop ทั้งเกรด 1 และ 2 มีอัตราการเกิด apoptosis ไม่แตกต่างกัน แต่สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเก็บเซลล์และไม่มีการแช่แข็งทั้งเกรด 1 และ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังสูงกว่ากลุ่มที่เก็บแยกเซลล์ของตัวอ่อนที่ไม่แช่แข็งทั้งเกรด 1 และ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกลุ่มที่เก็บและไม่เก็บแยกเซลล์ตัวอ่อนและแช่แข็งโดยใช้ Cryotop ตัวอ่อนเกรด 1 มีอัตราการเกิด apoptosis ต่ำกว่าตัวอ่อนเกรด 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกลุ่มที่เก็บและไม่เก็บแยกเซลล์ตัวอ่อนและแช่แข็งโดยใช้ 0.25 ml straw มีอัตราการเกิด apoptosis สูงกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดลองนี้สรุปได้ว่าการแยกเซลล์จากตัวอ่อนโครระยะบลาสโตซีสต์โดยใช้ Piezo-driven ให้ผลดีกว่าการใช้ Microblade การแช่แข็งตัวอ่อนโครระยะบลาสโตซีสต์ด้วยวิธี vitrification ทำให้เพิ่มอัตราการเกิด apoptosis

Abstract

Bovine embryo biopsy is needed to bring the embryonic cells to do sexing or genomic sequencing before transfer embryo to recipient. The non-invasive technique need to be carried out which will not harmful to embryos and can also be cryopreserved. In vitro produced bovine blastocysts were biopsied using Microblade and Piezo-driven techniques. A biopsied embryonic cell at 5 and 10% was not effect on the development to hatched blastocyst stage. However, the grades of embryos before biopsy effect the development of embryos. The grade 1 embryo biopsied with both techniques at 5 and 10% showed similar development to hatched blastocyst stage and was not different from the non-biopsy group. In the grade 2 embryos, biopsied with Microblade at 10% effect of embryo development, whereas biopsy with Piezo-driven at 5 and 10% showed no effect of embryo development.

Non-biopsy grade 1 embryo and then vitrified by Cryotop and 0.25 ml straw showed higher development than those grade 2 embryos. The grade 1 non-vitrified embryos showed little development to hatched blastocysts than those grade 2 but not significant different. In grade 2 embryos that had been vitrified by Cryotop showed development to hatched blastocyst stage higher than 0.25 ml group, but not significant different,

The previous experiment showed that biopsied by Piezo-driven gave better embryo development. The Piezo-driven was selected to biopsied blastocysts and then vitrified by Cryotop and 0.25 ml straw then examined apoptosis. The non-biopsied and non-vitrified embryos in both grade 1 and 2 showed lowest apoptosis and no different with biopsied and non-vitrified group. The apoptosis of non-biopsied and vitrified by Cryotop showed no different in both grade 1 and 2, but significant higher than those in non-biopsied and non-vitrified embryos in both grade 1 and 2. In the non-biopsied and vitrified by Cryotop of grade 1 embryos showed significant lower apoptosis than that grade 2. The non-biopsied and biopsied group those vitrified by 0.25 ml straw showed highest apoptosis and significant higher than that in other groups. In summary, this study can be concluded that biopsy bovine blastocysts by Piezo-driven gave better embryo development than Microblade. Vitrification of bovine blastocysts caused increasing apoptosis rate.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี