บทคัดย่อ

การแช่แข็งไข่และตัวอ่อนมีความสำคัญในการเก็บรักษาพันธุกรรมที่ดีของสิ่งมีชีวิตทั้งมนษย์และสัตว์ไว้ จุดประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อพัฒนาอุปกรณ์ และปรับปรุงเทคนิคสำหรับการแช่แข็งไข่สุกและตัวอ่อนโครระยะบลาสโตซีสโดยวิธี vitrification

การทดลองที่ 1 ได้ทำการแช่แข็งตัวอ่อนโครระยะบลาสโตซีสที่มีอายุ 7 วันและ 8 วัน ด้วยวิธี Cryotop vitrification พบว่าอัตรารอดไม่แตกต่างกันในกลุ่มแช่แข็งและตัวอ่อนสด แต่กลุ่มแช่แข็งตัวอ่อนที่มีอายุ 7 วัน มีอัตราการฟักตัวของตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสที่ 24 ชั่วโมงที่สูงกว่ากลุ่มแช่แข็งตัวอ่อนที่มีอายุ 8 วัน

การทดลองที่ 2 ได้ทำการแช่แข็งไข่โคสุกด้วยวิธี Paper device และ Cryotop vitrification พบว่า อัตรารอดของไข่หลังจากการแช่แข็ง และอัตราตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสที่ผลิตได้ไม่แตกต่างกันในกลุ่มที่ใช้ Paper device และ Cryotop ไข่โคแช่แข็งแบบ 2 ขั้นตอน สามารถมีชีวิตรอดได้แต่อัตราตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสที่ผลิตได้ต่ำกว่ากลุ่มไข่สดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังนั้นจึงได้พัฒนาการทำ virification ไข่แบบ 3 ขั้นตอน จากการศึกษานี้พบว่าไข่ที่ผ่านการแช่แข็งแบบ 3 ขั้นตอน ให้ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสสูงกว่าไข่ที่แช่แข็งด้วยแบบ 2-ขั้นตอน แต่ต่ำกว่ากลุ่มไข่สดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่กับการแช่แข็งตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส พบว่าการแช่แข็งทั้ง 2 แบบ มีอัตรารอดและอัตราการฟักตัวของตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสไม่แตกต่างกัน

และการทดลองที่ 3 ได้ทำการแช่แข็งแข็งตัวอ่อนโครระยะบลาสโตซีสด้วยวิธี Paper device vitrification แบบ 2 และ 3-ขั้นตอน พบว่า อัตรารอดและอัตราการฟักตัวของตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสไม่แตกต่างกันทั้งในกลุ่มการแช่แข็งแบบ 2 และ 3 ขั้นตอนและกลุ่มตัวอ่อนสด

การทดลองนี้สรุปได้ว่า การแช่แข็งด้วยวิธี Paper device ที่พัฒนาขึ้นมาให้ผลเทียบเท่า Cryotop ที่เป็นอุปกรณ์มาตรฐาน และการแช่แข็งด้วยวิธี vitrification แบบ 3 ขั้นตอน โดยใช้ Paper device เหมาะสำหรับแช่แข็งไข่โคสุก และตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Abstract

Vitrification of oocytes and embryos are crucial for preserving desired genetics of living organism including human and animals. The aims of this study were to develop a device and improved techniques for bovine matured (MII) oocytes and blastocysts vitrification.

In experiment 1, bovine blastocysts at D7 and D8 were vitrified using Cryotop vitrification. The results found that the survival rate of vitrified D7 and D8 blastocyst was not significantly different from control group but D7 vitrified blastocyst showed superior rates of hatchability than those of D8.

In experiment 2, MII ooctes were vitrified using Paper device and Ctyotop vitrification. There was no difference in the rate of oocytes survival and blastocysts production after vitrification of oocytes using Paper or Cryotop devices. Oocytes could survive from the 2-steps method but the blastocyst rate was significantly ($p<0.05$) lower than that of the fresh group. Therefore, the 3-steps technique for oocytes vitrification was developed. The results showed the blastocyst rate in the 3-steps method of MII oocytes vitrification was higher than that of the 2-steps but was significantly ($p<0.05$) lower than those in the fresh group. In case of blastocysts vitrification, it did not show any significant difference in both cases.

In experiment 3, bovine blastocysts were vitrified using Paper device vitrification with 2-steps and 3-steps technique. The results found the survival and hatched rate of vitrified blastocyst was not significantly different from fresh control.

This experiment can be concluded that the developed paper device gave similar results with modern standard Cryotop device, and 3-steps vitrification using paper device was suitable for bovine MII oocytes and blastocysts.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี