ชุดิ เหล่าธรรมธร : การโคลนนิ่งตัวอ่อนโคโดยใช้เซลล์ไฟโบรบลาสจากใบหูเป็นเซลล์ต้นแบบ : เปรียบเทียบอัตราการอยู่รอดหลังจากแช่แข็งในน้ำยาชนิดต่างๆ (CLONING OF BOVINE EMBRYOS BY USING EAR FIBROBLASTS AS DONOR CELL : COMPARISON OF SURVIVAL RATE AFTER FREEZING IN SEVERAL MEDIA) อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย, 83 หน้า ISBN 974-533-324-7

การทดลองนี้ได้ศึกษาผลของน้ำยาแช่แข็งที่มีและไม่มี 10% Ficoll และผลของ hatching status ต่ออัตรารอดของตัวอ่อนโคโคลนนิ่งอายุ 7 วัน หลังจากแช่แข็งด้วยวิธี Vitrification ตัวอ่อนระยะ hatching blastocyst จะถูกแบ่งออกเป็นสามกลุ่ม จากอัตราส่วนของเส้นผ่าศูนย์กลางของตัวอ่อนภายนอก zona pellucida ต่อเส้นผ่าศูนย์กลางของตัวอ่อนภายใน zona pellucida จากนั้นนำตัวอ่อนไปแช่ในน้ำยาที่มี 10% EG + 10% DMSO นาน 2 นาทีแล้วย้ายตัวอ่อนไปไว้ในน้ำยา ที่มี 20% EG + 20% DMSO + 0.5M sucrose ที่มีและไม่มี Ficoll นาน 30 วินาที นำตัวอ่อนไปวางที่ปลายของ Cryotop แล้วจุ่มลงในไนโตรเจนเหลวทันที หลังจากละลายพบว่าตัวอ่อนทั้ง 3 กลุ่มที่แช่แข็งในน้ำยาที่มีและไม่มี Ficoll มีรูปร่างปกติและมีอัตรารอดที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ หลังจากเลี้ยงในหลอดแก้ว 24 ชั่วโมง พบว่าตัวอ่อนที่แช่แข็งในน้ำยาที่ไม่มี Ficoll มีอัตรารอดสูงกว่ากลุ่มที่มี Ficoll และพบว่าตัวอ่อนกลุ่ม C มีอัตรารอดสูงสุด (80%, 24/30) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่า Ficoll และ hatching status ไม่มีผลต่ออัตรารอดของตัวอ่อนโคโคลนนิ่งที่แช่แข็งโดยวิธี Vitrification

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ปีการศึกษา 2546 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

CHUTI LAOWTAMMATHRON : CLONING OF BOVINE EMBRYOS BY USING EAR FIBROBLASTS AS DONOR CELL : COMPARISON OF SURVIVAL RATE AFTER FREEZING IN SEVERAL MEDIA

THESIS ADVISOR : RANGSUN PARNPAI, Ph.D. 83 PP.

ISBN 974-533-324-7

This study examined the effect of vitrification solution with and without 10% Ficoll and hatching status of day 7 cloned bovine hatching blastocysts on the survival rate after vitrification and warming. Hatching blastocysts were divided into three groups according to the ratio of extruding embryonic cells diameter and embryonic cells diameter inside the zona pellucida. The embryos were exposed to 10% EG + 10% DMSO for 2 minutes then moved to 20% EG + 20% DMSO + 0.5M sucrose with and without 10% Ficoll for 30 seconds. The embryos were placed on the sheet of Cryotop and immediately submerged in liquid nitrogen. Immediately after warming, morphology and survival rate of embryos in all groups in vitrification solution with and without Ficoll were not significantly different. After 24 h of *in vitro* cultured, the embryos in vitrification solution without Ficoll gave higher survival rate than the embryos in vitrification solution containing 10% Ficoll and the embryos in group C gave highest survival rate (80%, 24/30), however, it was not significantly different. In conclusion, Ficoll and hatching status of bovine cloned embryos did not effect the survival rate after vitrification and warming.

School of Biotechnology

Academic Year 2003

Student's Signature.....

Advisor's Signature.....

Co-advisor's Signature.....