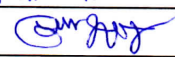


ภัทรวดี น้อยตา : ผลของ Reversine และ SAHA ต่ออัตราการเจริญ และ epigenetic reprogramming ของตัวอ่อนสุกรโคลนนิ่ง (EFFECTS OF REVERSINE AND SAHA ON DEVELOPMENT AND EPIGENETIC REPROGRAMMING OF CLONED PORCINE EMBRYOS) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย, 80 หน้า.

คำสำคัญ: สุกร/รีเวอร์ซิน/ซาฮา/การพัฒนา/การปรับโปรแกรมอีพีเจเนติก/การโคลนนิ่ง

การเจริญจนครบกำหนดคลอดที่ต่ำ หลังการย้ายฝากตัวอ่อนสุกรที่ผลิตจากเทคนิคการย้ายฝากนิวเคลียสของเซลล์ร่างกาย หรือการโคลนนิ่ง เกิดจากความผิดปกติของการปรับโปรแกรมอีพีเจเนติกส์ มีโมเลกุลขนาดเล็กที่เกี่ยวข้องกับการปรับโปรแกรมอีพีเจเนติกส์หลายชนิดได้ถูกนำมาใช้เพื่อปรับปรุงการปรับโปรแกรมและความสามารถในการเจริญของตัวอ่อนสุกรโคลนนิ่ง การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบผลของการเติม Reversine และ SAHA ต่อการเจริญและสถานะการปรับโปรแกรมอีพีเจเนติกส์ของตัวอ่อนสุกรโคลนนิ่ง ทำการตรวจสอบผลของความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเติม Reversine และ SAHA ต่อการเจริญของตัวอ่อน ระดับของการเปลี่ยนแปลงของอีพีเจเนติกส์ โดยการยับยั้งฮิสทอนดีเมทิลเลส (ICC) และ การแสดงออกของยีน โดยการทำให้ซีอาร์เชิงปริมาณ จากการทดลองพบว่า การเติมด้วย Reversine ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 ชั่วโมงในระหว่างการกระตุ้นและการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนโคลนนิ่ง ส่งผลให้ตัวอ่อนมีการพัฒนาไปสู่ระยะบลาสโตซิสต์สูงสุด ถึง 39.3 เปอร์เซ็นต์ การเติมด้วย Reversine ช่วยลดระดับของอะซิทิลเลชันของฮิสโคนที่ 3 ไลซีนที่ 9 (H3K9ac) ในระยะ 4 และ 8 เซลล์ และลดระดับของไตรเมทิลเลชัน ของฮิสโคนที่ 3 ไลซีนที่ 9 (H3K9me3) ในระยะโพรงนิวเคลียส (PN) และระยะ บลาสโตซิสต์ของตัวอ่อนโคลนนิ่ง นอกจากนี้การเติมด้วย Reversine ยังช่วยควบคุมการแสดงออกของยีนต่างๆ ในทางบวก โดยเพิ่ม *OCT4*, *SOX2* และ *OCT4* และยับยั้ง *HDAC1*, *DNMT1* และ *DNMT3A* ในระยะบลาสโตซิสต์ของตัวอ่อนโคลนนิ่ง นอกจากนี้ การเติม SAHA ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมงระหว่างการกระตุ้นและการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนสุกรโคลนนิ่ง ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญของตัวอ่อนไปสู่ระยะบลาสโตซิสต์เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) และเพิ่มระดับ H3K9ac ในระยะ PN, 8-เซลล์ และ บลาสโตซิสต์ และยังเพิ่มระดับฮิสโคนที่ 3 ไลซีนที่ 14 (H3K14ac) ในระยะบลาสโตซิสต์ ลดระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชัน และยับยั้งการเกิด 5-เมทิลไซโทซีน (5-mC) ในระยะ 2 เซลล์และบลาสโตซิสต์ และลดระดับการเกิด H3K9me3 ในระยะ PN ของตัวอ่อนโคลนนิ่ง นอกจากนี้การเติม SAHA ทำให้เพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญ (*NANOG*) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเมทิลเลชันของดีเอ็นเอ (*DNMT1* และ *DNMT3A*) และการเกิด ดีอะซิทิลเลชันของฮิสโตน (*HDAC1* และ *HDAC2*) ในระยะ บลาสโตซิสต์ของตัวอ่อนโคลนนิ่ง จากผลการทดลองนี้ ชี้ให้เห็นว่า Reversine และ SAHA มีผลร่วมในการปรับปรุงความสามารถในการเจริญของตัวอ่อนสุกรโคลนนิ่ง โดยการควบคุมการปรับโปรแกรม อีพีเจเนติกส์ ดังนั้นข้อมูลจากการทดลองนี้อาจมีส่วนช่วยในการผลิตตัวอ่อนสุกรโคลนนิ่ง เพื่อการผลิตลูกสุกรสำหรับการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ และการอนุรักษ์สัตว์ที่ใกล้สูญพันธุ์

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2567

ลายมือชื่อนักศึกษา ภัทรวดี น้อยตา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา 

PHATTARAWADEE NOITA : EFFECTS OF REVERSINE AND SAHA ON DEVELOPMENT
AND EPIGENETIC REPROGRAMMING OF CLONED PORCINE EMBRYOS. THESIS
ADVISOR : ASSOC. PROF. RANGSUN PARNPAI, Ph.D. 80 PP.

Keyword: Porcine/Reversine/SAHA/Development/Epigenetic reprogramming/Cloning

The low full-term live offspring of porcine somatic cell nuclear transfer (SCNT) or cloned embryos after transfer to recipient is caused by aberrant epigenetic reprogramming. Several epigenetic remodeling small molecules have been used to improve reprogramming and the developmental competence of porcine SCNT embryos. In this study, we investigated the effects of Reversine and SAHA on the development and epigenetic reprogramming status of porcine SCNT embryos. The optimal concentration and duration of Reversine and SAHA treatments on embryonic development was investigated by measuring various levels of epigenetic reprogramming by immunocytochemistry staining (ICC) and quantitative polymerase chain reaction (qPCR). The rate of blastocyst formation was 39.3% when SCNT embryos were treated with 1 μ M Reversine for 6 hours during activation and culture. In SCNT embryos, Reversine treatment decreased acetylation of histone 3 lysine 9 (H3K9ac) levels at the 4- and 8-cell stages, as well as trimethylation of histone 3 lysine 9 (H3K9me3) levels at the PN and blastocyst stages. Furthermore, Reversine treatment positively regulated the mRNA expression of genes in SCNT blastocysts by promoting *OCT4*, *SOX2* and *NANOG*, but repressing *HDAC1*, *DNMT1* and *DNMT3A*. In addition, 1 μ M SAHA treatment for 12 h during activation and culture of SCNT embryos could improve blastocyst formation rates compared to the un-treated group ($P < 0.05$). SAHA enhanced H3K9ac levels at pronuclear (PN), 8-cell and blastocyst stages and histone 3 lysine 14 (H3K14ac) levels at blastocyst stage, reduced global DNA methylation levels as well as anti-5-methylcytosine (5-mC) at 2-cell and blastocyst stages, and H3K9me3 at PN stage of SCNT embryos. Moreover, SAHA treatment significantly upregulated the expression of the development-related gene (*NANOG*), but downregulated the expression of genes related to DNA methylation (*DNMT1* and *DNMT3A*) and histone deacetylation (*HDAC1* and *HDAC2*) in SCNT blastocysts. These results suggest that Reversine and SAHA have synergistic effects on improving developmental competences by regulating epigenetic reprogramming. Therefore, these strategies may contribute to the generation of porcine SCNT embryos to produce live offspring for biomedical applications and endangered species conservation.

School of Biotechnology
Academic Year 2024

Student's Signature Phattarawadee
Advisor's Signature Rangsun Parnpai