

การเพิ่มจำนวนลูกแพะเพศเมียโดยการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อที่ผ่านการคัดเพศ

Increasing female Goat with sexed semen by Artificial Insemination

วิวัฒน์ พัฒนาวงศ์

Wiwat Pattanawong

คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

การเพิ่มจำนวนแพะเพศเมียในฟาร์มเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มผลผลิต และการใช้น้ำเชื้อที่มีสัดส่วนสเปิร์มที่มีโครโมโซมวาย (Y chromosome) หรือสเปิร์มวาย น้อยกว่าที่มีอยู่ในธรรมชาติ จะทำให้อัตรา การเกิดลูกแพะเพศเมียเพิ่มขึ้น การประยุกต์ใช้ปฏิกิริยาไซโตทอกซิก (Cytotoxicity) ในระบบภูมิคุ้มกันที่ใช้แอนติบอดีเป็นปัจจัยสำคัญ เป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยทำลายสเปิร์มวายได้ วัตถุประสงค์ของการวิจัยคือ: ผลิต โมโนโคลนอลแอนติบอดี (Monoclonal antibody, MAAb) ต่อแอนติเจนที่จำเพาะต่อสเปิร์มวาย และหาปฏิกิริยาไซโตทอกซิกที่เหมาะสมในการทำลายสเปิร์มวาย ผลการทดลองพบว่า หมู่ 1 ใน 20 ตัวมีการสร้างแอนติบอดีต่อเอช-วายแอนติเจนในสัปดาห์ที่ 4 ของการกระตุ้น หลังการเชื่อมเซลล์ 14-21 วันได้ตรวจพบ กลุ่มโคลนลูกผสม (Hybridoma clone) จำนวน 12 โคลน จากทั้งหมด 450 โคลน ที่มีความจำเพาะเจาะจง ต่อเอช-วายแอนติเจน เมื่อนำโคลนหมายเลข 3D8 มาแยกเป็นโคลนเดี่ยวพบว่า เป็นอิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin) ชนิด IgG จากนั้นได้เลือกโคลนหมายเลข 3D8-11A2 ที่มีการผลิตแอนติบอดีปริมาณมากที่สุดมาใช้ในปฏิกิริยาไซโตทอกซิก สำหรับปฏิกิริยาไซโตทอกซิก เป็นการบ่มระหว่าง เซลล์อสุจิแพะกับ โมโนโคลนอล แอนติบอดี และ โปรตีนคอมพลีเมนต์ (Complement) จากหนูตะเภา พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของปฏิกิริยาไซโตทอกซิกเกิดขึ้นที่การเจือจาง โมโนโคลนอลแอนติบอดี 1:10 และคอมพลีเมนต์ เจือจางที่ 1:50 เมื่อวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค Immunofluorescence microscopy พบว่าผลของปฏิกิริยาพบว่าทำให้ลดสัดส่วนของสเปิร์มวาย (ควบคุมการเกิดเพศผู้) ลงเหลือ 11 % หรือทำให้มีปริมาณสเปิร์มเอกซ์ (ควบคุมการเกิดเพศเมีย) เพิ่มขึ้น 89

Abstract

Increment of female in farms is one way to boost its production. One approach to achieve the goal is using semen with low proportion of Y-bearing spermatozoa, which means that X-bearing is higher than the Y-bearing spermatozoa then prone to give higher possibility of female. Cytotoxic immunological reaction is one method to manipulate the ratio of the Y-bearing spermatozoa in goat semen. To set up the condition of the cytotoxic immunological reaction against the Y-bearing spermatozoa I have to have two components, which are monoclonal antibody (MAb) to cell surface antigen of the Y-bearing spermatozoa and complement protein. Then, the objectives of my research are: (1) to produce (MAb against Y-bearing spermatozoa, which has male specific antigen on its cell surface, and (2) to establish cytotoxic immunological reaction against the spermatozoa (H-Y antigen). It was found that, within 14-21 days after fusion, that one mouse could produce the antibody and able to produce 12 clone. Those clone number 3D8 capable of binding specifically with the bovine H-Y antigen and were classified to be IgG. One of them, clone number 3D8-11A2, was chosen due to its highest antibody activity. In the experiment to find optimum dilution of the antibody and the complement from the Guinea pig in the cytotoxic reaction, It was found that the optimal dilution of the MAb and the complement were 1:10 and 1:50, respectively. When those treated semen were sexed by Immunofluorescence microscopy method (IFM), 89 % of the spermatozoa were identified to be female.