ผลของกรดไขมันบางชนิดต่อการเจริญในหลอดทดลอง และความอยู่รอดหลังย้ายฝากของเมาซ์เอ็มบริโอ

นายบุณฑริก เก้าเอี้ยน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2538

ISBN 974-631-971-1

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I16700272

EFFECTS OF SOME FATTY ACIDS ON THE DEVELOPMENT OF MOUSE EMBRYOS *IN VITRO* AND THEIR VIABILITY AFTER TRANSFER

Mr. Boondaring Kaoein

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Department of Biology
Graduate School
Chulalongkorn University
1995

ISBN 974-631-970-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของกรดไขมันบางชนิดต่อการเจริญในหลอดทดลอง และความอยู่รอด หลังย้ายฝากของเมาซ์เอ็มบริโอ
โดย	นายบุณฑริก เก้าเอี้ยน
ภาควิชา	ชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.วิทยา ยศยิ่งยวด

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจาร์ย ดร.สันติ ถุงสุวรรณ)

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.ม.ร.ว.พุฒิพงศ์ วรวุฒิ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.วิทยา ยศยิ่งยวด)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นสพ.ดร.มงคล เตชะกำพุ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัชนี สิงห์อาษา)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

บุณฑริก เก้าเอี้ยน : ผลของกรดไขมันบางชนิดต่อการเจริญในหลอดทดลอง และความอยู่รอดหลังการย้ายฝากของเมาซ์เอ็มบริโอ (EFFECTS OF SOME FATTY ACIDS ON THE DEVELOPMENT OF MOUSE EMBRYOS IN VITRO AND THEIR VIABILITY AFTER TRANSFER) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.วิทยา ยศยิ่งยวด, 103 หน้า.
ISBN 974-631-970-1

งานทดลองครั้งนี้ มุ่งศึกษาความสำคัญของกรดไขมัน 3 ชนิด ได้แก่ กรดโอเลอิก, กรดลิโนเลอิก และกรดอะราคิโดนิก ต่อการเจริญนอกร่างกายของเอ็มบริโอหนูเมาซ์ จากระยะ 2-เซลล์ จนเป็นบลาสโตซิสที่หลุดจากโซนาเพลลูซิดาภายนอกร่างกาย และความอยู่รอดหลังการย้ายฝาก ผลการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอระยะ 2-เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่มีกรดไขมันเหล่านี้เข้มข้น 0.18, 0.09 และ 0.045 mM แสดงให้เห็นว่าเอ็มบริโอที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีกรดไขมันเข้มข้น 0.045 mM สามารถเจริญได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของเอ็มบริโอในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีกรดไขมันแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 0.045 mM ทั้ง 3 กลุ่มกับกลุ่มควบคุม พบว่าเอ็มบริโอทุกกลุ่มสามารถเจริญจากระยะ 2-เซลล์ ถึงมอรูลาได้ไม่แตกต่างกัน และไม่มีเอ็มบริโอกลุ่มใดที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติมกรดไขมันเจริญได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม เอ็มบริโอในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่เติมกรดอะราคิโดนิกดูจะเจริญได้น้อยกว่ากลุ่มอื่น ๆ แต่ไม่ถึงระดับที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนการเจริญถึงระยะบลาสโตซิส พบว่า เปอร์เซ็นต์ของเอ็มบริโอที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีกรดลิโนเลอิก (37.32%) ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (49.46%) เล็กน้อย และต่ำกว่ากลุ่มที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีกรดอะราคิโดนิก (56.65%) หรือมีกรดโอเลอิก (57.80%) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) การเจริญของบลาสโตซิสต่อไปจนถึงขั้นหลุดออกจากโซนาเพลลูซิดาในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีกรดไขมันทุกกลุ่ม ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่มีกรดไขมันในน้ำยาเพาะเลี้ยง โดยเฉพาะกลุ่มที่มีกรดลิโนเลอิก และกลุ่มที่มีกรดอะราคิโดนิก มีเปอร์เซ็นต์การเจริญของเอ็มบริโอระยะนี้ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีกรดโอเลอิกอย่างมีนัยสำคัญ ผลการทดลองเหล่านี้อาจแสดงให้เห็นว่า กรดโอเลอิกมีผลดีต่อการเจริญของเอ็มบริโอมากกว่ากรดไขมันตัวอื่นที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ แต่เมื่อศึกษาผลต่อเนื่องของกรดโอเลอิกที่ความเข้มข้น 0.045 mM ต่อการฝังตัว และการอยู่รอดของเอ็มบริโอหลังการย้ายฝากไปยังตัวรับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีกรดไขมัน ปรากฏว่าทั้ง 2 กลุ่มให้ผลในการฝังตัวที่มดลูก และจำนวนลูกที่คลอดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

โดยสรุป การศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า กรดไขมันที่ปนเปื้อนในซีรัมอัลบูมินปกติ น่าจะมีผลส่งเสริมการเจริญนอกร่างกายของเอ็มบริโอหนูเมาซ์ระยะก่อนการฝังตัว การเติมกรดลิโนเลอิก อะราคิโดนิก หรือ โอเลอิก ชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียวในน้ำยาเพาะเลี้ยงไม่ช่วยให้เอ็มบริโอเจริญได้ดีขึ้น อาจต้องมีกรดไขมันอยู่ร่วมกันหลายชนิด หรือมีสารอื่นที่จำเป็นต่อการเจริญของเอ็มบริโอ (ซึ่งอาจสูญเสียไปในกระบวนการสกัดไขมันออกจากซีรัมอัลบูมิน) นอกจากนี้ เอธานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายกรดไขมันยังอาจมีผลกระทบต่อการเจริญของเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ใช้ซีรัมอัลบูมินชนิดปราศจากไขมันด้วย

ภาควิชา ชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา สัตววิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2537 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

C425204 : MAJOR BIOLOGY
KEY WORD: FATTY ACID / ALBUMIN / EMBRYO CULTURE
BOONDARING KAOEIN : EFFECTS OF SOME FATTY ACIDS ON THE DEVELOPMENT OF MOUSE EMBRYOS IN VITRO AND THEIR VIABILITY AFTER TRANSFER.
THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. VITHAYA YODYINGYUAD, Ph.D., 103 pp.
ISBN 974-631-970-1

Experiments were carried out to study the effects of 3 fatty acids namely oleic acid, linoleic acid and arachidonic acid on the development of 2-cell mouse embryos to hatched blastocyst stage in vitro, and their viability following transfer. Cultivations of 2-cell embryo in medium 16 (M-16) containing these fatty acids at 0.18, 0.09 and 0.045 mM in vitro indicated that maximum development occurred in medium containing 0.045 mM fatty acids. However, developments of these 2-cell embryos to morula stage in 0.045 mM fatty acid-containing media were not different from, and no better than, those in the control group. The development of embryos in arachidonic acid-containing medium was lower than, but not significantly different ($p > 0.05$) from the others. Percentage of embryos developed to blastocysts in linoleic acid-containing medium (37.32%) was a bit lower than that of the control (49.46%) but significantly lower ($p < 0.05$) than those in arachidonic acid- and oleic acid-containing media (56.65%) and 57.80% respectively). Developments to hatched-blastocyst stage in all fatty acid-containing media were no better than that in the fatty acid-free medium. Significantly lower percentages of embryo developed to hatched-blastocyst stage in linoleic acid- and arachidonic acid-containing media than in the control and in oleic acid-containing medium ($p < 0.05$). These results might suggest that oleic acid is better in term of embryonic development enhancement than other fatty acids used in this study. √No differences on implantaion and survival to therm were found between the subsequent transfers of 8-cell embryos developed in medium containing 0.045 mM oleic acid and fatty acid free medium to pseudopregnant reciplients. In conclusion, these experiments indicated that fatty acid residues in normal serum albumin should have supportive effect on in vitro development of preimplantation mouse embryos. Linoleic acid, arachidonic acid or oleic acid singly supplemented in the culture medium did not support embryonic development. It possibly needs combination of fatty acid or some other substances necessary for the promotion of embryonic development (which might be lost in the process of defatted of serum albumin). Besides, ethanol used as fatty acids solvent might also affect the development of embryos in medium contaning defatted serum albumin.

ภาควิชา ชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา สัตววิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2537 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก รศ.ดร.วิทยา ยศยิ่งยวด อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำและข้อคิดเห็น ตลอดจนตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ของการศึกษาวิจัยนี้ด้วยดีมาตลอด

ขอขอบพระคุณ ศ.ดร.ม.ร.ว.พุฒิพงศ์ วรวุฒิ ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.นสพ.ดร.มงคล เตชะกำพุ ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.พัชนี สิงห์อาษา ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา ซึ่งสนับสนุนในด้านการเงินและพี่ ๆ เพื่อน ๆ ที่ให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

บุณฑริก เก้าเอี้ยน

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ฉ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฌ

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพและกราฟ ..... ฌ

บทที่

1. บทนำ 1

วัตถุประสงค์ของการทดลอง 27

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 28

2. วิธีดำเนินการวิจัย 29

- สัตว์ทดลอง 29
  - การตรวจวงจรการเป็นสัด 29
  - การชักนำให้หนูเมาซ์ ตกไข่จำนวนมากโดยฮอร์โมน PMSG และ HCG 31
  - การเตรียมหนูเพื่อเก็บเอ็มบริโอ 32
  - การเก็บเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ที่ระยะ 2-เซลล์ 32
  - การเตรียมหนูเพศเมียเป็นตัวรับโดยวิธีตั้งท้องเทียม 33
  - การเตรียมหนูเพื่อการย้ายฝากเอ็มบริโอ 33
- อุปกรณ์ 34
- สารเคมี 36
  - การเตรียมน้ำยาเพาะเลี้ยง 38
- วิธีทดลอง 40

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.1 ศึกษาผลของกรดไขมันที่มีบนเปื้อนอยู่ในซีรัมอัลบูมินบกติ เปรียบเทียบกับ BSA ชนิดบราศจากกรดไขมัน และผลของเอธานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายกรดไขมัน ต่อการเจริญของเอ็มบริโอระยะ 2-เซลล์ 40

2.2 ศึกษาผลของกรดไขมัน 3 ชนิด คือ ลิโนเลอิก, อะราคิโดนิก และโอเลอิก ต่อการเจริญ และการหลุดออกจากโซนาเพลลูซิดา 41

2.3 ศึกษาผลต่อเนื่องของกรดไขมัน ต่อการฝังตัวและการอยู่รอดของเอ็มบริโอ 42

3. ผลการทดลอง 45

- ผลของกรดไขมันที่บนเปื้อนในซีรัมบูมินต่อการจริญของเอ็มบริโอหนูเมาซ์ระยะ 2-เซลล์ ไปถึงระยะบาสโตซีสที่หลุดออกจากโซนาเพลลูซิดา 45
- ผลของเอธานอลต่อการเจริญของเอ็มบริโอหนูเมาซ์ระยะ 2 เซลล์ ไปถึงระยะบลาสโตซีสที่หลุดออกจากโซนาเพลลูซิดา ... 48
- ผลของกรดลิโนเลอิกต่อการเจริญของเอ็มบริโอหนูเมาซ์ ระยะ 2-เซลล์ ถึงระยะที่เอ็มบริโอหลุดจากโซนาเพลลูซิดา 51
- ผลของกรดอะราคิโดนิก ต่อการเจริญของเอ็มบริโอหนูเมาซ์ ระยะ 2-เซลล์ถึงระยะที่เอ็มบริโอหลุดออกจากโซนาเพลลูซิดา. 55
- ผลของกรดโอเลอิก ต่อการเจริญของเอ็มบริโอหนูเมาซ์ที่ระยะ 2 เซลล์ถึงระยะที่เอ็มบริโอหลุดออกจากโซนาเพลลูซิดา 59
- ผลการศึกษาความอยู่รอดหลังการย้ายฝาก ของเอ็มบริโอระยะ 8 เซลล์ ที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ใช้ซีรัมอัลบูมินชนิดบราศจากกรดไขมัน เปรียบเทียบกับกลุ่มที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ใช้ซีรัมอัลบูมินบกติ 69

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

- ผลการศึกษาความอยู่รอดหลังการย้ายฝากของเอ็มบริโอระยะ 8 เซลล์ ที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ใช้ซีรัมอัลบูมินชนิดปราศจาก กรดไขมัน และเติมกรดโอเลอิก (0.045 mM)..... 72
- ผลการศึกษาความอยู่รอดหลังการย้ายฝากของเอ็มบริโอที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงปกติ..... 75

4. วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง..... 79

รายการ อ้างอิง..... 89

ประวัติผู้เขียน..... 103

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	การย้ายฝากตัวอ่อนที่ประสบความสำเร็จเป็นครั้งแรกในสัตว์ชนิดต่าง ๆ	26
2.1	ลักษณะเซลล์ของช่องคลอดที่ปรากฏ	31
2.2	ส่วนประกอบของน้ำยาเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาส์	39
3.1	เปอร์เซ็นต์การจริญของเอ็มบริดอระยะ 2-เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินปกติ (normal BSA) ที่มีกรดไขมันบนเปื้อน และในน้ำยาเพาะเลี้ยง ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินชนิดที่ปราศจากกรดไขมัน (defatted BSA)	46
3.2	เปอร์เซ็นต์การเจริญของเอ็มบริโอจากระยะ 2-เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ใช้ซีรัมอัลบูมินปกติ (normal BSA),M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินปกติ (normal BSA)+เอธานอล, M-16 ที่ใช้ BSA ชนิดที่ปราศจากกรดไขมัน (defatted BSA) และ M-16 ที่ใช้ BSA ชนิดที่ปราศจากกรดไขมัน (defatted + เอธานอล)	49
3.3	เปอร์เซ็นต์การเจริญและการออกจากโซนาเพลลูซิดาของเอ็มบริโอที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากระยะ 2-เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินชนิดที่ปราศจากกรดไขมัน (กลุ่มควบคุม) และในน้ำยาพาะเลี้ยง M-16 ที่เติมกรดลิโนเลอิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (0.18, 0.09 และ 0.45 mM)	53
3.4	เปอร์เซ็นต์การเจริญและการออกจากโซนาเพลลูซิดาของเอ็มบริโอที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากระยะ 2-เซลล์	

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
	ในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินชนิดที่บราศจากกรดไขมัน เติมเอธานอล (กลุ่มควบคุม) และในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่มีเฉพาะกรดอะราคิโดนิกที่ความเข้มข้นต่างกัน 3 ค่า ดังนี้ 0.18, 0.09 และ 0.045 mM.....	57
3.5	เปอร์เซ็นต์การเจริญและการออกจากระยะเพลลูซิดาของเอ็มบริโอที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากระยะ 2-เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินชนิดที่บราศจากกรดไขมันเติมเอธานอล (กลุ่มควบคุม) และในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่มีกรดโอเลอิกที่ความเข้มข้นต่างกัน 3 ค่า ดังนี้ 0.18, 0.09 และ 0.045 mM.....	61
3.6	สรุปเปอร์เซ็นต์การเจริญและการออกจากระยะเพลลูซิดาของเอ็มบริโอที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากระยะ 2-เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินชนิดที่บราศจากกรดไขมันเติมเอธานอล (กลุ่มควบคุม) และในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีกรดลิโนเลอิกอะราคิโดนิก และโอเลอิกที่ความเข้มข้น 0.045 mM ซึ่งเป็นค่าที่สนับสนุนการเจริญเอ็มบริโอดีที่สุด.....	63
3.7	การย้ายฝากเอ็มบริโอที่ระยะ 8-เซลล์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอตั้งแต่ระยะ 2 เซลล์ในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินปกติ และ M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินชนิดที่บราศจากกรดไขมัน.....	70
3.8	การย้ายฝากเอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอตั้งแต่ระยะ 2-เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้อัลบูมินชนิดที่บราศจากกรดไขมันเติมเอธานอล ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมและ M-16 ที่เติมกรดโอเลอิกที่ความเข้มข้น 0.045mM.	73

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

3.9 การย้ายฝากเอ็มบริโอที่ระยะ 8-เซลล์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ตั้งแต่ระยะ 2-เซลล์ จนถึงระยะ 8-เซลล์ เทียบกับกลุ่มควบคุมโดยย้ายฝากเอ็มบริโอที่ระยะ 8-เซลล์ ที่เก็บจากหนูเมาซ์เพศเมียที่ท้องเป็นวันที่ 3 (DAY - 3)..... 76

สารบัญรูปภาพและกราฟ

รูปที่		หน้า
1.1	องค์ประกอบของสารที่เอ็มบริโอของหนูเมาซ์ สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานและความสัมพันธ์กับขบวนการเมแทบอลิซึม..	7
1.2	แสดงวิถีร่วมของมแทบอลิซึม.....	12
1.3	กระบวนการเปลี่ยนกรดโอเลอิก (Oleic acid) เป็นกรดลิโนเลอิก (Linoleic acid) เกิดขึ้นในพืช ส่วนขบวนการเปลี่ยนกรดลิโนเลอิก (Linoleic acid) มาเป็นกรดอะราคิโดนิก (Arachidonic) เกิดขึ้นในสัตว์.....	17
2.1	เอ็มบริโอใน Pipette ก่อนการย้ายฝาก.....	44
2.2	การย้ายฝากเอ็มบริโอเข้าตัวรับ.....	44
3.1	กราฟการเจริญของเอ็มบริโอระยะ 2 เซลล์ ที่เพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมิน ชนิดที่มีกรดไขมันปนเปื้อน (NBSA) และ BSA ชนิดที่บราศจากกรดไขมัน (DEFATTED BSA).....	47
3.2	กราฟการเจริญของเอ็มบริโอ จากระยะ 2-เซลล์ ที่เพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินปกติ (N BSA), ซีรัมอัลบูมินปกติ (N BSA) เติมเอธานอล (N BSA + ETOH), ซีรัมอัลบูมิน ชนิดที่บราศจากกรดไขมัน (DEFATTED BSA), ซีรัมอัลบูมิน ชนิดที่บราศจากกรดไขมันเติมเอธานอล (DEFATTED และ ETOH).....	50
3.3	กราฟการเจริญของเอ็มบริโอจากระยะ 2 เซลล์ในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินชนิดที่บราศจากกรดไขมันเติมเอธานอลและในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่เติมกรดลิโนเลอิก ที่ความเข้มข้นต่างกัน 3 ค่า ดังนี้ .018, 0.09 และ 0.045 mM.....	54

สารบัญรูปภาพและกราฟ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.4	กราฟการเจริญของเอ็มบริโอที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากระยะ 2 เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินชนิดที่ปราศจากกรดไขมันเติมเอธานอล และในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่มีเฉพาะกรดอะราคิโดนิกที่ความเข้มข้นต่างกัน 3 ค่า ดังนี้ 0.18, 0.09 และ 0.045 mM.....	58
3.5	กราฟการเจริญของเอ็มบริโอ ระยะ 2 เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมิน ชนิดที่ปราศจากกรดไขมันเติมเอธานอล (กลุ่มควบคุม) และในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่เติมกรดโอเลอิก ที่มีความเข้มข้นต่างกัน 3 ค่า ดังนี้ 0.18, 0.09 และ 0.045 mM.....	62
3.6	กราฟการเจริญของเอ็มบริโอ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากระยะ 2 เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมิน ชนิดที่ปราศจากกรดไขมันเติมเอธานอล (กลุ่มควบคุม) และในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่เติมกรด ลิโนเลอิก, อะราคิโดนิก และโอเลอิก ที่มีความเข้มข้น 0.045 mM ซึ่งเป็นค่าที่สนับสนุนการเจริญดีที่สุด.....	64
3.7 A	รังไข่, ท่อนำไข่ และมดลูก.....	65
3.7 B	มีการตัดท่อนำไขออกไปเพื่อชะล้างเอาเอ็มบริโอมาใช้ในการทดลอง.....	65
3.8	การเจริญของเอ็มบริโอในระยะต่าง ๆ ก่อนการฝังตัว.....	66
3.9	กราฟการย้ายฝากเอ็มบริโอที่ระยะ 8-เซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอตั้งแต่ระยะ 2-เซลล์ในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินปกติ และ M-16 ที่ใช้ซีรัมอัลบูมินชนิดที่ปราศ-จากกรดไขมัน.....	71

สารบัญรูปภาพและกราฟ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.10	กราฟการย้ายฝากเอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอตั้งแต่ระยะ 2-เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ที่ใช้อัลบูมินชนิดที่บราศจากกรดไขมัน เติมเอธานอลซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม และ M-16 ที่เติมกรดโอเลอิกที่ความเข้มข้น 0.045 mM.....	74
3.11	กราฟการย้ายฝากเอ็มบริโอที่ระยะ 8-เซลล์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในน้ำยาเพาะเลี้ยง M-16 ตั้งแต่ระยะ 2-เซลล์ จนถึงระยะ 8-เซลล์ เทียบกับกลุ่มควบคุมโดยย้ายฝากเอ็มบริโอที่ระยะ 8-เซลล์ ที่เก็บจากหนูเมาซ์ เพศเมียที่ท้องเป็นวันที่ 3 (DAY 3).....	77
3.12	การผ่าเปิดหน้าท้อง (laparotomy) ตรวจดูจำนวนฟีตัส ที่เกิดจากการย้ายฝาก.....	78
3.13	ฟีตัส ที่เกิดจากการย้ายฝาก.....	78
4.1	ความเป็นไปได้ของการเปลี่ยนแปลงคาร์บอนอะตอมจาก [u^{14}c]glucose ไปเป็นไขมัน โดยเฉพาะไตรเอซิล-กลีเซอรอล.....	81