

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG 5380069

ชื่อโครงการ : การศึกษาอัตราการเกิดและลักษณะของหนูธาลัสซีเมียที่เกิดจากเอ็มบริโอ
ระยะ 2 เซลล์และ 8 เซลล์ที่ผ่านการแช่แข็ง

ชื่อนักวิจัย : ดร.ดวงใจ บุญกุศล

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

E-mail Address : ngamsomd@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

บทคัดย่อ:

การเก็บรักษาเอ็มบริโอด้วยวิธีการแช่แข็งสามารถช่วยในการจัดการเก็บรักษาสายพันธุ์ของหนูเมาส์ที่มีการดัดแปลงพันธุกรรม (TG) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเก็บรักษาและการย้ายฝากเอ็มบริโอหนูธาลัสซีเมีย 4 สายพันธุ์ คือ BKO, 654, E2 และ E4 โดยการประเมินจากจำนวนลูกที่คลอด น้ำหนักหย่านม การเติบโต และลักษณะของหนูธาลัสซีเมีย หลังการย้ายฝากเอ็มบริโอที่ผ่านการแช่แข็งจากการแช่แข็งเอ็มบริโอหนูธาลัสซีเมียที่ใช้ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างหนูเพศผู้ธาลัสซีเมียแต่ละสายพันธุ์ผสมกับหนูเพศเมีย wild type (WT; B57BL/6Mlac) เอ็มบริโอที่สมบูรณ์ถูกแช่แข็งโดยวิธี vitrification ในหลอดพลาสติก (straw) ที่มีสารละลาย 35 เปอร์เซ็นต์ ethylene glycol อัตราการรอดหลังจากการย้ายฝากของเอ็มบริโอระยะ 2 เซลล์ที่ผ่านการแช่แข็งในกลุ่ม BKO, 654, E2 และ E4 คือ 32.5, 31.5, 20.0 และ 18.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากในการทดลองของกลุ่มเอ็มบริโอระยะ 8 เซลล์ หลังการย้ายฝากและการตั้งท้องของแม่ตัวรับพบปัญหาการกินลูกหลังคลอดเป็นจำนวนมาก จึงได้ตรวจสอบการเจริญในตัวสัตว์ (*in vivo*) จนถึงระยะการฝังตัวและการเจริญเป็นฟetusของเอ็มบริโอสดและเอ็มบริโอแช่แข็งหลังการย้ายฝาก พบว่าวิธีการแช่แข็งที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ไม่มีผลต่ออัตราการฝังตัวและจำนวนฟetusของเอ็มบริโอหนู 654, BKO และ E2 แต่มีผลทำให้การฝังตัวของเอ็มบริโอหนู E4 ลดลง ผู้วิจัยติดตามอัตราการเกิดและลักษณะของหนูธาลัสซีเมียต่อเฉพาะในเอ็มบริโอระยะ 2 เซลล์ คำนวณน้ำหนักหย่านมเฉลี่ยของลูกหนูที่มียีนธาลัสซีเมียสายพันธุ์ BKO และ 654 ต่ำกว่าหนู WT นอกจากนี้จำนวนลูกที่คลอดตาย และที่มีการกีดกันลูกมักจะพบในหนู BKO และ 654 มากกว่า E2 และ E4 น้ำหนักหลังหย่านม (สัปดาห์ที่ 3) และการเติบโตจนถึงสัปดาห์ที่ 8 ของลูกที่เกิดจากเอ็มบริโอ WT มีค่าสูงกว่าน้ำหนักหลังหย่านมของลูกที่เกิดจากเอ็มบริโอ TG ในหนูสายพันธุ์ BKO และ 654 จากค่าโลหิตวิทยาและค่า spleen index ของลูกหนูที่เจริญมาจากเอ็มบริโอระยะ 2 เซลล์ที่ผ่านการแช่แข็งทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่าหนู BKO และ 654 แสดงอาการของโรคธาลัสซีเมียอย่างชัดเจน โดยค่าโลหิตวิทยาแสดงให้เห็นว่า BKO และ 654 มีอาการซีด ในขณะที่ E2 และ E4 ไม่แสดงอาการซีด นอกจากนี้หนู BKO และ 654 มีค่า spleen index มากกว่าค่า spleen index ของหนู WT, E2 และ E4 จากผลการทดลองสรุปได้ว่าสายพันธุ์หนูธาลัสซีเมียมีผลต่ออัตราการเกิดลูก ลักษณะอาการของโรคธาลัสซีเมียและอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำ พบเฉพาะในสายพันธุ์ BKO และ 654

คำหลัก : การแช่แข็ง, ธาลัสซีเมีย, หนูเมาส์, เอ็มบริโอ

Abstract

Project Code : MRG 5380069

Project Title : Study of birth rates and thalassemic mouse characteristics of transgenic pups derived from cryopreserved 2-cell and 8-cell stage embryos

Investigator : Dr.Duangjai Boonkusol

Department of Biology, Faculty of Science, Srinakharinwirot University

E-mail Address : ngamsomd@yahoo.com

Project Period : 2 years

Abstract:

Embryo cryopreservation can assist banking of transgenic (TG) thalassemic mouse lines. The purpose of this study was to evaluate pups rate, weanling weight, post-weanling growth rate, and hematological parameters of the four TG pups (BKO, 654, E2, and E4) obtained from vitrified-warmed embryos transfer. Two and eight-cell embryos were produced by breeding four lines of TG thalassemic males to wild-type (WT) females (C57BL/6J) and were cryopreserved by vitrification in straws using 35% ethylene glycol. Percentage of pups developed from cryopreserved 2-cell embryos in 654, BKO, E2, and E4 strains were 32.5, 31.5, 20.0, and 18.1%, respectively. Since there are many dead offsprings which are often eaten in 8-cell embryos experiment, *in vivo* development of fresh and vitrified embryos after embryo transfer can be observed from implantation and fetus rates only. The result showed that vitrification was not influent to the implantation rates of 654, BKO and E2, while E4 had a significant reduction in implantation rate. The weanling weight (3 weeks (wk) of age), post-weanling growth rate (4 to 8 wk of age), hematological parameters, and spleen index were measured only in TG and WT viable pups from cryopreserved 2-cell embryos. Significant differences in weanling weight were found between WT and TG pups of BKO and 654 lines. At post-weaning BKO and 654 lines, TG mice were significantly lighter than their age-matched WT mice. However, significant differences in weanling and post-weanling weight were not found between WT and TG pups of E2 and E4 lines. The hematological parameters values showed anemia, thalassemia phenotype, in BKO and 654 mice, but not in E2 and E4 mice. Moreover, the TG mice of BKO and 654 showed higher spleen index than WT, E2 and E4 mice. In conclusion, thalassemic mouse lines affected pups rate and thalassemia phenotypes, such as anemia, high spleen index, low weanling and post-weanling weight were evident only the two TG genetic background in BKO and 654.

Keywords : cryopreservation, thalassemia, mouse, embryo