

## บทคัดย่อ

---

(รหัสโครงการ) MRG5580026

(ชื่อโครงการ) การแยกเพศอสุจิโดยใช้โพลีโคลนอลแอนติบอดีจับกับแอนติเจนที่ผิวตัวอสุจิวาย

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน อ.ดร.น.สพ.เติมพงศ์ วงศ์ตะวัน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

**E-mail Address:** tuempong.wan@mahidol.edu

(ระยะเวลาโครงการ) 2 ปี

โครงการทดลองนี้ประกอบด้วย 3 การทดลอง โดยมีวัตถุประสงค์โดยรวมคือ เพื่อพัฒนาเทคนิคใหม่ในการแยกเพศตัวอสุจิสุกร และมีวัตถุประสงค์ที่เฉพาะคือ 1) เพื่อพัฒนาเทคนิคการตรวจเพศตัวอสุจิที่รวดเร็วและแม่นยำ 2) เพื่อศึกษาผลของการแช่แข็งตัวอสุจิต่อการรอดชีวิตของอสุจิ X และ Y และ 3) เพื่อศึกษาและพัฒนาการใช้โพลีโคลนอลแอนติบอดีในการแยกเพศตัวอสุจิ

วิธีการทดลองจะใช้น้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็งสุกร ทำการตรวจเพศอสุจิโดยใช้เทคนิค Real-time PCR แยกตัวอสุจิที่แข็งแรงโดยใช้เทคนิค Sperm swim-up มีการเปรียบเทียบ Cryomedia และ Thawing extender และผลิตโพลีโคลนอลแอนติบอดีจากกระต่ายเพื่อใช้ในการแยกเพศอสุจิ

ผลการทดลอง ผู้วิจัยสามารถพัฒนาเทคนิคที่เร็วและแม่นยำในการตรวจเพศอสุจิโดยใช้เทคนิค Single sperm real-time PCR ร่วมกับ Melt curve analysis ซึ่งให้ specificity และ sensitivity ที่สูง และพบว่า Cryomedia และ Thawing extender มีผลต่อการรอดชีวิตของตัวอสุจิ X และ Y ทำให้สามารถใช้ในการแยกเพศตัวอสุจิได้ นอกจากนี้ผู้วิจัยยังสามารถผลิตโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อ DBY ที่สามารถใช้ในการแยกเพศอสุจิได้ และยังพบว่าซีรัมกระต่ายสามารถใช้ในการแยกเพศอสุจิได้เช่นกัน

ผลการทดลองนี้สรุปว่าผู้วิจัยสามารถแยกเพศอสุจิในห้องทดลองได้ แต่อย่างไรก็ดีจะต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตว่าเทคนิคนี้สามารถปรับไปใช้และได้ผลในการผสมเทียมสุกรในฟาร์มหรือไม่

**คำหลัก :** สุกร ตรวจเพศอสุจิ แยกเพศอสุจิ โ

## Abstract

---

**Project Code:** MRG5580026

**Project Title:** Porcine sperm sexing by using polyclonal antibody bind specifically to Y-sperm membrane specific antigen

**Investigator:** Dr.Tuempong Wongtawan, Faculty of Veterinary Science, Mahidol University.

**E-mail Address:** tuempong.wan@mahidol.edu

**Project Period:** 2 years

This research project contains 3 main experiments; the overall objective was to develop novel technique for separation porcine X and Y sperm. The specific objective were; 1) to develop new fast and effective technique to identify sex of sperm 2) to investigate effect of cryopreservation to survival of X and Y sperm and 3) to develop technique using polyclonal antibody to separate porcine X and Y sperm.

Fresh and frozen-thawed semen were used. Real-time PCR technique was used to identify sex of sperm. Sperm swim-up technique was performed to select strongly survived sperm. Cryomedia and thawing extenders were compared to investigate whether they had effect on X and Y sperm. Rabbit polyclonal antibody against DBY antigen was used to investigate the ability to separate X and Y sperm.

The results revealed that we could develop novel fast and effective technique to identify sex of sperm by using single sperm real-time PCR together with melt curve analysis which gave high specificity and sensitivity. We found that cryomedia and thawing extender affected survival of X and Y sperm and could be used to separate X and Y sperm. We were also able to produce rabbit serum contain polyclonal antibody against DBY antigen, and it was able to separate X and Y sperm inn vitro. Surprisingly rabbit serum without antibody against DBY antigen also could be used to separate X and Y sperm in vitro.

In summary, we could separate porcine X and Y sperm using cryopreservation, polyclonal antibody and rabbit serum in vitro. However, these techniques will need to be tested and optimized to use with in vitro fertilization or conventional artificial insemination, and to investigate whether these techniques will work in vivo and field study.

**Keywords : Pig Sperm Sexing**