



บทที่ 1

บทนำ

การปฏิสนธินอกร่างกายในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเป็นที่กล่าวขวัญถึงและพยายามทำมานานเกือบศตวรรษกว่าจะประสบความสำเร็จเป็นครั้งแรก เมื่อปี ค.ศ. 1959 โดย Dr. M.C.Chang ได้ทำการทดลองในกระต่าย ด้วยการทำการปฏิสนธินอกร่างกาย ระหว่างไข่กระต่ายกับน้ำเชื้อกระต่ายที่ผ่านการคาพาซิเตชัน แล้วย้ายฝากเข้าไปในท่อหน้าไข่ของกระต่ายตัวรับ และได้ลูกเกิดมามีลักษณะตรงตามพันธุกรรมของพ่อแม่ที่แท้จริง (Chang, 1983) จากจุดเริ่มต้นของความสำเร็จนี้ทำให้เกิดความพยายามอย่างต่อเนื่องในสัตว์หลาย ๆ ชนิดรวมถึงความสำเร็จในคนด้วย (Edwards et al. 1969)

ความสำเร็จในการทำการปฏิสนธินอกร่างกายในโคนับตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 (Brackett et al. 1980) ได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง จนสามารถสร้างระบบการผลิตเอ็มบริโอในห้องปฏิบัติการจากรังไข่ที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์เพื่อผลิตในเชิงการค้า (Gordon and Lu, 1990) แต่ในสุกร Iritani และคณะ (1978) ได้รายงานความสำเร็จในการทำการปฏิสนธินอกร่างกายเป็นครั้งแรกโดยใช้อสุจิที่คาพาซิเตทในทางเดินระบบสืบพันธุ์เพศเมีย แล้วแยกออกมาผสมกับโอโอไซด์ที่เลี้ยงให้สุกนอกร่างกาย ลูกสุกรที่เกิดจากการปฏิสนธินอกร่างกายเป็นครั้งแรกได้รายงานโดย Cheng (1985) โดยใช้ไข่ที่สุกในตัวสัตว์ จนในปี ค.ศ. 1989 Mattioli และคณะประสบความสำเร็จในการผลิตลูกสุกรด้วยการย้ายฝากเอ็มบริโอที่ได้จากโอโอไซด์ที่เลี้ยงให้สุกนอกร่างกาย แล้วจึงทำการปฏิสนธินอกร่างกาย

ถึงแม้ว่าการปฏิสนธินอกร่างกายในสุกรจะประสบผลสำเร็จแล้วก็ตาม แต่อัตราความสำเร็จยังต่ำอยู่มาก จึงยังไม่สามารถจะนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตเชิงธุรกิจได้อย่างจริงจังเหมือนในโค เนื่องจากงานนี้ในสุกรมีความแปรปรวนมาก เพราะเกิดปรากฏการณ์ที่อสุจิเข้าไปในไซโตพลาสซึมของไข่มากกว่า 1 ตัว ในอัตราที่สูง จึงทำให้เกิดการก่อตัวของนิวเคลียสในอัตราต่ำ แม้ว่าวิธีการเสริมเชิงวิจัยจะมีแนวทางในการแก้ไขปัญหาดังกล่าวแล้วก็ตาม แต่ในทางปฏิบัติการปฏิสนธินอกร่างกายโดยทั่วไป ก็ยังไม่สามารถจะเพิ่มอัตราการแบ่งตัวหลังปฏิสนธิให้สูงได้

(Nagai, 1994; 1996) ดังนั้นงานวิจัยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพจึงยังคงต้องมีการศึกษาจากสภาวะที่เป็นจริงในตัวสัตว์และภายนอกตัวสัตว์ เป็นการเปรียบเทียบประกอบกันไป

เนื่องจากในปัจจุบันมีการเลี้ยงและบริโภคเนื้อสุกรเป็นจำนวนมาก ดังนั้นจึงมีแหล่งของรังไข่มากมาย โอโอไซต์ที่ได้จากฟอลลิเคิลบนรังไข่จึงเป็นแหล่งเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียที่มีศักยภาพสูงในการนำมาใช้เป็นแหล่งศึกษาหาความรู้ด้านต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการปฏิสนธิ และการพัฒนาการของเอ็มบริโออันจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้กับสัตว์สกุลที่ใกล้เคียงกันและเป็นสัตว์หายาก

สุกรเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งที่ใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนของมนุษย์ แต่ระบบการผลิตสุกรในปัจจุบันกระทำในเชิงอุตสาหกรรม ได้มีการพัฒนาพันธุ์สุกรให้มีความเหมาะสมเชิงการผลิตแบบอุตสาหกรรม ทำให้มีการคัดเลือกเอาแต่พันธุ์ที่ต้องการใช้และไม่ได้ให้ความสนใจรักษาสุกรพันธุ์อื่น ๆ ไว้ โดยเฉพาะพันธุ์ดั้งเดิมในท้องถิ่นนั้น ๆ จึงเป็นไปได้ที่สุกรพันธุ์ท้องถิ่นอาจสูญพันธุ์ไปได้ เมื่อการผลิตสุกรในระบบอุตสาหกรรมแพร่กระจายเข้าไปในท้องถิ่นนั้น โอโอไซต์จากรังไข่สุกรเป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียที่ควรที่จะเก็บรักษาไว้ให้ได้ในเบื้องต้น เพราะไม่ต้องเสียเวลาและมีค่าใช้จ่ายเพิ่มในขบวนการปฏิสนธิ ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้สูง และใช้ต้นทุนต่ำ ในการรวบรวมรังไข่ของสุกรพันธุ์ต่าง ๆ ในท้องถิ่นนั้น ๆ ที่เหลือน้อย

การแช่แข็งโอโอไซต์จากรังไข่สุกรในปัจจุบัน ยังไม่ประสบผลสำเร็จจนสามารถปฏิสนธิได้ แต่ก็มีหลายวิธีในการแช่แข็งและโปรตีนที่ช่วยป้องกันการทำลายโอโอไซต์จากเกล็ดน้ำแข็ง (Didion et al., 1990; Rubinsky et al., 1990; Nagashima et al., 1996) การเก็บรักษาโอโอไซต์ของสุกรไว้ในสภาพแช่แข็งเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยอนุรักษ์สุกรพันธุ์ต่าง ๆ ที่ยังไม่ได้ใช้ในระบบอุตสาหกรรมให้คงอยู่ เพราะการผลิตสุกรในระบบอุตสาหกรรมจะทำให้ความหลากหลายของพันธุ์สุกรหายไป ซึ่งสุกรในแต่ละท้องถิ่นอาจมีพันธุ์กรรมที่มีคุณค่า แต่ในปัจจุบันยังไม่ได้ใช้หรือศึกษาอย่างจริงจัง ดังนั้น จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ควรจะทำการศึกษาวิธีการเก็บรักษาโอโอไซต์ในสภาพการแช่แข็งเพื่อรักษาความหลากหลายทางพันธุกรรมสุกรไว้ทำการศึกษาและใช้ประโยชน์ในอนาคต

การศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อความสามารถในการเจริญของโอโอไซต์เพื่อปฏิสนธิในอกร่างกายและวิธีการแช่แข็งที่จะเป็นไปได้ โดยการวิจัยนี้ประกอบด้วย 4 การทดลองคือ

1. ระบบการเลี้ยงโอโอไซด์และปฏิสนธินอกร่างกายในมีเดียสำเร็จรูป เพื่อหาระบบการเลี้ยงโอโอไซด์และปฏิสนธินอกร่างกายที่เหมาะสม สำหรับใช้เป็นบรรทัดฐานในการเปรียบเทียบผลการศึกษาในการทดลองที่ 2, 3 และ 4 ต่อไป

2. ทดสอบความสามารถในการมีชีวิตรอดของโอโอไซด์ ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเพื่อดูระยะเวลาการมีชีวิตรอดของโอโอไซด์ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง การทดลองนี้เพื่อหารูปแบบของการเก็บรักษาไข่

3. ทดสอบความสามารถและวิธีการที่เหมาะสม ในการเก็บรักษาโอโอไซด์ที่อุณหภูมิเหนือจุดเยือกแข็ง เพื่อดูความทนทานต่อความเย็นเหนือจุดเยือกแข็งและวิธีการที่เหมาะสมที่จะป้องกันโอโอไซด์ให้มีชีวิตรอดเมื่ออุณหภูมิเย็นลง

4. ทดสอบวิธีการแช่แข็งที่จะสามารถทำให้โอโอไซด์มีชีวิตรอดสูงสุด เพื่อหาวิธีการและสารป้องกันการเกิดเกล็ดน้ำแข็งในเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับไข่สุกร

การศึกษาครั้งนี้ จะทำให้ทราบถึงแนวทางในการเก็บรักษาโอโอไซด์สุกรในรูปของการเก็บรักษาไข่และในรูปโอโอไซด์ อันเป็นแนวทางในการหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาโอโอไซด์สุกร ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการนำโอโอไซด์สุกรไปใช้หาความรู้ทางชีววิทยาด้านต่างๆ อีกทั้งยังสามารถใช้เป็นวิธีการสำหรับอนุรักษ์พันธุ์สุกรที่ยังไม่ได้ใช้ในระบบการผลิต และเพื่อความสะดวกในการขนย้ายพันธุ์สัตว์ที่ประหยัดและเป็นการป้องกันโรคติดต่อ อันจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่ออุตสาหกรรมการผลิตสุกรโดยภาพรวม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย