

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กัญจนะ มากวิจิตร. 2532. หลักการผสมพันธุ์การดูแลแม่โคและลูกโคเนื้อแรกคลอด.
รวมเรื่องโคเนื้อ. นครปฐม: โรงพิมพ์ ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: หน้า 46-62.
- ปราดนา พฤษะศรี. 2532. พันธุ์โคและหลักในการเลือกซื้อโคพันธุ์. รวมเรื่องโคเนื้อ.
นครปฐม: โรงพิมพ์ ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์: หน้า 4-22.
- มงคล เตชะกำพุ ชัยณรงค์ โลหะจิต วิชัย ทันตสุภารักษ์ วันเพ็ญ ศรีอนันต์ จินดา สิงห์หล่อและ
จินตนา อินทรมงคล 2537. การใช้ฮอร์โมนโกนาโดโทรปินเพื่อกระตุ้นการเจริญของ
ฟอลลิเคิลในรังไข่ของลูกกระบือปลัดก่อนวัยเจริญพันธุ์. รายงานผลการวิจัยทุนวิจัย
รัชดาภิเษกสมโภช, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 23หน้า.

ภาษาอังกฤษ

- Adams, G.P., Kot, K., Smith, C.A. and Ginther, O.J. 1992a. Role of FSH in the mechanism of
selection of the dominant follicle in heifers. th 12 International Congress on Animal
Reproduction the Hague, the Netherlands August 23rd -August 27th Congression
Proceeding. 1:179-182.
- _____. Matteri, R.L. and Ginther, O.J. 1992b. Effect of progesterone on growth of ovarian
follicles, emergence of follicular waves and circulating FSH in heifers.
J.Reprod.Fert. 95:627-640.
- _____. Matteri, R.L., Kastelic, J.P., Ko, J.C.H. and Ginther, O.J. 1992c. Association between
surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in
heifers. J.Reprod.Fert. 94: 177-188.
- Andrews, A. H., Blowey, R.W., Boyd, H. and Eddy, R. G. 1992. Bovine medicine diseases
and husbandry of cattle. Chapter 30: Reproductive physiology in cattle. p.399-426.
- Armstrong, D.T., Holm, P., Irvine, B., Peterson, B.A., Stubbing, R.b., Mclean, D., Stevens, G.
and Seamark, R.F. 1991. Laparoscopic aspiration and in vitro maturation of oocytes
from calves. Theriogenology. 35: 182.(abstr.)

- _____. Holm, P., Irvine, B., Peterson, B.A., Stubbing, R.b., Mclean, D., Stevens, G. and Seamark, R.F. 1992. Pregnancies and live birth from *in vitro* fertilization of calf oocytes collected by laparoscopic follicular aspiration. *Theriogenology*. 38 (4): 667 -678.
- _____. 1993. Recent advances in superovulation of cattle. *Theriogenology*. 39:7-24.
- _____. D.T., Irvine, B., Earl, C.R., Mclean, D. and Seamark, R.F. 1994. Gonadotropin stimulation regimens for follicular aspiration and *in vitro* embryo production from calf oocytes. *Theriogenology*. 42: 1127-1236.
- Baltussen, R.M.W.A., Vos, P.L.A.M., Pieterse, M. C., de Loos, F.A.M., Bevers, M.M. and Dieleman, S.J. 1992. Transvaginal ultrasound-guided follicle puncture in PMSG/PG treated cows: A comparison between three puncture needles. 12th International Congress on Animal Reproduction the Hague, The Netherlands. August 23rd - August 2th congression proceeding. 1: 129-131.
- Bedirian, K.N. and Baker, R.D. 1975. Follicular development, oocyte maturation and ovulation gonadotrophin-treated prepuberal calves. *J.Anim.Sci*. 55: 193-199.
- Bellows, R.A. and Short, R.E. 1972. Superovulation and multiple births in beef cattle. *J.Anim.Sci*. 34(1): 67-79.
- Bols, P. E. J., Vanderheede, J. M. M., Van Soom, A. and Kruif, A. de. 1995. Transvaginal ovum pick-up (OPU) in the cow : A new disposable needle guidance system. *Theriogenology*. 43 : 677-687.
- Brackett, B.G., Bousquet, D., Boice, M. L., Donawick, W. J., Evans, J. F. and Dressel M. A. 1982. Normal development following *in vitro* fertilization in the cow. *J.Biol.Reprod*. 27: 147-158.
- Callesen, H., Greve, T. and Hyttel, P. 1986. Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. *Theriogenology*. 25: 71-85.
- _____. Greve, T. and Christensen, F. 1987. Ultrasonically guided aspiration of bovine follicular oocytes. *Theriogenology*. 27: 217.(abstr.)
- Carruthers, T.D. 1986. Principle of hormone therapy in *Theriogenology*. In: Current therapy in *Theriogenology* edited by D.Morrow, Saunders Co. U.S.A.: 3-12.

- Chuangsoongneon, U. and Kamonpatana, M. 1991. Oocyte maturation, *in vitro* fertilization and culture system for developing preimplantation swamp buffalo embryos using frozen thawed semen. *J. Buffalo*. 7(2): 189-198.
- Cheng, M.C. 1959. Fertilization of rabbit ova *in vitro*. *Nature*. 184: 466-467.
- Chupin, D., Combarous, Y. and Procureur, R. 1984. Antagonistic effect of LH on FSH induced superovulation in cattle. *Theriogenology*. 21: 229(abstr.)
- Coskum, S., Sanbuissho, A., Lin, Y.C. and Rikihisa, Y. 1991. Fertilizability and subsequent developmentalability of bovine oocytes matured in medium containing epidermal growth factor(EGF). *Theriogenology*. 36(3): 485-493.
- Crister, E.S., Leibfried-Rutledge, M.L., Eyestone, W.H., Northey, D.L. and First, N.L. 1986. Acquisition of developmental competence during maturation *in vitro*. *Theriogenology*. 25: 150.(abstr.)
- Dami, P., Fissore, R. A., Cibelli, J. B., Robl, J. M. and Duby, R. T. 1995. Evaluation of cytoplasmic maturation of calf oocytes. *Theriogenology*. 43(1): 191.(abstr.)
- Donaldson, L.E. and Ward, D.N. 1985. Superovulation in cattle: Dose response to FSH with and without LH contamination. *Theriogenology*. 23; 189(abstr.)
- Driancourt, M.A. 1991. Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology*. 35(1) :55-79.
- Duby, R.T., Damiani, P., Looney, C.R., Fissore, R.A. and Robl, J. M. 1996. Prepuberal calves as oocyte donors: Promises and Problems. *Theriogenology*. 45(1): 121-130.
- Earl, C.R., Irvine, B.J., Kelly, J.M., Rowe, J.P. and Armstrong, D.T. 1995. Ovarian stimulation protocols for oocyte collection and *in vitro* embryo production from 8 to 9 week old lambs. *Theriogenology*. 43(1): 203.(abstr.)
- Elsden, R.P., Nelson, L.D. and Seidel, G.E. 1978. Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotropin. *Theriogenology*. 9: 17-26
- Erickson, B.H. 1966. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. *J. Anim. Sci.* 24(3): 800.
- Evans, A.C.O., Adams, G.P. and Rawlings, N.C. 1994. Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. *J. Reprod. Fert.* 102: 463-470.
- Fukui, Y., Sonoyama, T., Mochizuki, H. and Ono, H. 1990. Effects of heparin dosage and sperm capacitation time on *in vitro* fertilization and cleavage of bovine oocytes matured *in vitro*. *Theriogenology*. 34: 579-591.

- Fukushima, M. and Fukui, Y. 1985. Effect of gonadotrophins and steroids on the subsequent fertilizability of extrafollicular bovine oocytes cultured *in vitro*. *J.Anim.Reprod.Sci.* 9(4): 323-332.
- Garcia, A., Ma Pletoft, R.J. and Kennedy, R. 1994. Effect of serum dose on fertilization and embryo quality in superovulated cows. *Theriogenology.* 41: 202(abstr.).
- Gonzalez-mencio, F., Manns, J. and Murphy, B.D. 1978. FSH and LH activity of PMSG from mares at different stage of gestation. *J.Anim.Reprod.Sci.* 1: 137-144.
- Hamano, S. and Kuwayama, M. 1993. *In vitro* fertilization and development of bovine oocytes recovered from the ovaries of individual donors : a comparison between the cutting and aspiration method. *Theriogenology.* 39: 703-712.
- Hawk, H.W., Nel, H.D., Waterman, R.A. and Wall, R.J. 1992. Investigation of means to improve rates of fertilization in *in vitro* matured *in vitro* fertilized bovine oocytes. *Theriogenology.* 38(6): 989-998.
- Humphrey, W.D., Murphy, B.D., Rieger, D., Mapletoft, R.J., Manns, J. and Fretz, P.D. 1979. Effect of FSH/LH ratio of PMSG on ovulatory response. *Theriogenology.* 11: 101(abstr.)
- Irvine ,B., Armstrong ,D.T., Earl, C.R., McLean ,D.and Seamark ,R.F. 1993. Follicle development and oocyte recovery from calves with repeated gonadotropin stimulation and follicular aspiration. *Theriogenology.* 39: 237.(abstr).
- _____.Earl, C.R., Armstrong ,D.T. and Seamark ,R.F. 1994. Effect of hormonal treatment and interval between treatment on follicle development in calves.*Theriogenology.* 41: 221. (abstr.)
- Jainudeen, M.R., Hafez, E.S.E. and Lineweaver, J.A. 1966. Superovulation in the calf. *J.Reprod.Fert.*12: 149-153.
- Johnston, L.A., O'Brien, S.J. and Wildt, D.E. 1989. *In vitro* maturation and fertilization of domestic cat follicular oocytes. *Gamete.Res.* 24: 343-356.
- _____.Donoghue, A.M., o'Brien, S.J. and Wildt, D.E. 1991. Rescue and maturation *in vitro* of follicular oocytes collected from non domestic felid species. *Bio.Reprod.* 45: 895-906.
- Kajihara, Y., Blakewood , E.G., Myers, M.W., Kometani, N., Goto, K. and Godke, R.A.1991. *In vitro* maturation and fertilization of follicular oocytes obtained from calves. *Theriogenology.* 35 :220(abstr.) .

- Liebfried-Rutledge, M.L., Critser, E.S. and First, N.L. 1986. Effects of fetal calf serum and bovine serum albumin on *in vitro* maturation and fertilization of bovine and hamster cumulus oocyte complexes. *Bio.Reprod.* 35(4): 850-857.
- Lu, K.M., Shi, D.S., Jiang, M.S., Goulding, D., Boland, M.P. and Roche, J.F. 1991. Comparison of the developmental capacity of bovine oocytes from superovulated nonstimulated heifers. *Theriogenology.* 35(1): 234(abstr.).
- Martino, A., Palomo, M.J., Mogas, T. and Paramio, M.T. 1994. Influence of the collection technique of prepuberal goat oocytes on *in vitro* maturation and fertilization. *Theriogenology.* 42: 859 - 873.
- Mermillod, P., Wils, C., Massip, A. and Dessy, F. 1992. Collection of oocytes and production of blastocysts *in vitro* from individual, slaughtered cows. *J.Reprod.Fert.* 96(2): 717-723.
- Miller, G.F., Glidet, D.W., Rakes, J.M. and Rorie, R.W. 1994. Addition of penicillamine, hypotaurine and epinephrine (PHE) or bovine oviductal epithelial cell (BOEC) alone or in combination to bovine *in vitro* fertilization medium increases the subsequent embryo cleavage rate. *Theriogenology.* 41: 689-696.
- Mattoli, M., Bacci, M.L., Galeati, G. and Seren, E. 1989. Developmental competence of pig oocytes matured and fertilized *in vitro*. *Theriogenology.* 31: 1201-1207.
- Moor, R.M., Kruij, Th.A.M. and Green., D. 1984. Intra-ovarian control of folliculogenesis: Limits to superovulation. *Theriogenology.* 21: 103-116.
- _____.and Trouson, A.O. 1977. Hormonal and follicular factors affecting maturation of sheep oocytes *in vitro* and their subsequent developmental capacity. *J.Reprod.Fert.* 49: 101-109.
- Myers, M.W., Zhaing, L., Stroud, B.K. and Godke, R.A. 1992. Development of *in vitro* maturation bovine oocytes fertilized either *in vitro* or *in vivo*. 12th International Congress on Animal Reproduction the Hague, the Netherlands. August 23rd -August 27th congression proceeding. 2: 668-669.
- Onuma, H., Hahn, J., Maurer, R.R. and Foote, R.H. 1969. Repeated superovulation in calves. *J.Anim.Sci.* 28: 634 -637.
- _____.H. and Foote ,R.H. 1969. *In vitro* development of ova from prepuberal cattle. *J.Dairy Sci.* 52(7): 1085 -1087.

- Parrish, J.J., Krogenaes, A. and Susko-Parrish, L. 1995. Effect of bovine sperm separation by either swim-up or percoll method on success of *in vitro* fertilization and early embryonic development. *Theriogenology*. 44: 859-869.
- _____.Susko-Parrish, J.L. and First. N.L. 1985. Effect of heparin and chondroitin sulfate on the acrosome reaction and fertility of bovine sperm *in vitro*. *Theriogenology*. 24(5): 537-549.
- Palma, G.A., Climent-Sengewald, A. and Krefft, H. 1993 .*In vitro* production of cattle embryos from calf oocytes. *Theriogenology*. 39: 278.(abstr)
- _____.1994. Effect of FSH and Estradiol - 17 β for maturation of calf oocytes on the *in vitro* development to blastocysts . *Theriogenology*.
- Pieterse, M. C., Vos, P. K. T., Willems, A. H. and Taverne, M. A. M. 1991. Characteristic of bovine estrous cycle during repeated transvaginal ultrasound-guided puncturing of follicle for ovum pick-up. *Theriogenology*. 35: 401-413.
- Prokof, ev, M.I., Ernst, L.K., Suraeva, N.M., Lagutina, I.S., Udavlennikova, N.N., Kesyan, A.Z.and Dolgokhatskii, A.I. 1992. Bovine oocyte maturation, fertilization and further development *in vitro* and after transfer into recipient. *Theriogenology*. 38(3): 461-469.
- Saeki, K., Kato, H., Hosoi, Y., Miyake, M. and Utsumi, K. 1991. Early morphological events of *in vitro* fertilized bovine oocytes with frozen-thawed spermatozoa. *Theriogenology*. 35(5): 1051-1057.
- Shamsuddin, M., Larsson, B., Gustafsson, H.,and Rodriguez-Martinez, H. 1993. *In vitro* development up to hatching of bovine *in vitro* -matured and fertilized oocytes with or without support from somatic cells. *Theriogenology*. 39(5): 1067-1079.
- Sanbuissho, A. and Threlfall, W.R. 1990. The influence of serum and gonadotrophins on *in vitro* maturation and fertilization of bovine oocytes. *Theriogenology*. 34(2): 341-347.
- Schellander, K., Motlik, J., Mayr, B., Luciak, G. and Schleger, W. 1986.. *In vitro* maturation and fertilization of zona free bovine oocytes. *J. Ani.-Breeding and Genetics*. 103(2): 143-147 (abstr).

- Scaramuzzi, R.J., Adams, N.R., Baird, D.T., Campbell, B.K., Downing, J.A., Findlay, J.K., Henderson, K.M., Martin, G.B., McNatty, K.P., McNeilly, A.S. and Tsonis, C.G. 1993. A model for follicle and the determination of ovulation rate in the ewe. *J.Reprod.Fert.* 5: 459-478.
- Seidel, G E., Larson ,C.H, Hahn, J. and Foote, R.H. 1971 . Culture and transfer of calf ova . *J.Dairy.Sci.* 54: 923-926 .
- Sekine, J., Sakurada, T. and Oura, R. 1992. Optimum temperature of ovary transportation for *in vitro* fertilization of bovine oocytes. *Vet. Record.* 131(16): 372.
- Stubbing, R.B., Wosik ,C. and Armstrong, D.T. 1993.Ovarian response in calves to multiple versus a single subcutaneous injection of folltropin. *Theriogenology.* 39: 321.(abstr.)
- Techakumphu, M., Lohachit, C, Tantasuparak, W., Srianas, W., Singlor, J., Intaramongkol, C. and Chantaraprateep, P. 1994. Oocyte recovery from prepubertal swamp buffaloes after gonadotropin stimulation. *Proceeding 1-st Asian Buffalo Association Congress.* 379-385.
- Thibault, C.,Szolloiy, D. and Gerard, M. 1987. Mammalian oocyte maturation. *Reprod.Nutr.Develop.* 27: 865-896.
- Trounson, A. 1992. The production of ruminant embryos *in vitro*. *Ani.Reprod.Sci.* 28: 125-137.
- Tsafiriri, A. and Pomerantz, S. H. 1986. Oocyte maturation inhibitor. *Clinics in endocrinology and metabolism.* 15(1): 157-170.
- Vajta, G., Machaty, Z., Barandi, Zs. and Varga, Zs. 1992. Embryos derived from the *in vitro* fertilization of oocytes of pregnant cows. *Theriogenology.* 37: 811-815.
- Xu, K.P., Hill, B. and Betteridge, K.J. 1992. Application of *in vitro* fertilization techniques to obtain calves from valuable cows slaughter. *Vet.Record.* 130(10): 204-206.
- Yang, N.S, Lu, K.H. and Gordon, I.1990. *In vitro* fertilization (IVF) and culture(IVC) of bovine oocytes from stored ovaries. *Theriogenology.* 33: 352.
- Yang, B.K., Yang, X. and Foote, R.H. 1993. Effect of growth factors on morula and blastocyst development of *in vitro* matured and *in vitro* fertilized bovine oocytes.*Theriogenology.* 40(3): 521-503.

ภาคผนวก

ฮอร์โมนที่ใช้ในโปรแกรมการกระตุ้นสร้างฟอลลิเคิล

1. Crestar[®] (Norgestomet and Oestradiol valerate)

ประกอบด้วย

ยาฝังใต้ผิวหนัง (Implant) ที่มี Norgestomet (17α -acetoxy- 11β - methyl-19-norpreg-4-en-3,20 dione) 3 มก. ฝังใต้ผิวหนังบริเวณด้านนอกใบหู

ยาฉีด 2 ซีซี. ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ที่มี Norgestomet ในรูปสารละลายในน้ำมัน ปริมาณ 3 มก. และ Oestradiol valerate ปริมาณ 5 มก.

บริษัทที่ผลิต : Intervet , ประเทศฮอลแลนด์

2. Folltropin-V[®]

ประกอบด้วย ฮอร์โมน เอฟ เอส เอช (Follicle stimulating hormone) ปริมาณ 400 มก. NIH*-FSH-P1 ทำละลายด้วยน้ำกลั่น 20 มล. มีความเข้มข้น 20 มก./ มล.

ฟอลลโทรปิน เป็นฮอร์โมน เอฟ เอส เอชที่มีความบริสุทธิ์สูง ซึ่งสกัดจากต่อมใต้สมองของสุกร มีอัตราส่วนฮอร์โมน เอฟ เอส เอช ต่อฮอร์โมน แอล เอช (FSH / LH)สูงทำให้มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการตอบสนองของรังไข่

บริษัทที่ผลิต Vetrepharm , เมืองออนทاريو ประเทศแคนาดา

3. Chorulon[®]

ประกอบด้วยฮอร์โมนเอส ซี จี (Human chorionic gonadotropin) 1500 ใอยู / ขวดในรูปผลึกคูดแห้ง(Freeze-dried crystalline plug) พร้อมสารละลายทำละลาย

บริษัทที่ผลิต Intervet ประเทศฮอลแลนด์

*NIH : National institutes of health (U.S.A.)

รายการสารเคมี

1. Media 199 : Gibco BRL ,U.S.A., Lot.No. 75K6252
2. Epinephrine : Sigma Chemical Co,U.S.A., Cat.No. E-4250 , Lot.No. 61H0493
3. Pyruvic acid : Sigma Chemical Co,U.S.A., Cat.No. P-2256 , Lot. No. 117C0338
4. Gentamycin sulfate : Sigma Chemical Co,U.S.A., Cat.No. G-3632 , Lot.No. 44H0340
5. Hyaluronidase : Sigma Chemical Co,U.S.A., Cat.No. H-3506 , Lot.No. 101H7135
6. Penicillamine : Sigma Chemical Co,U.S.A., Cat.No. P-4875 , Lot. No. 79F0016
7. Hypotaurine : Sigma Chemical Co,U.S.A., Cat.No. H1384 , Lot.No. 83H7100
8. Estradiol-17 β : Sigma Chemical Co,U.S.A., Cat.No. E-2758 , Lot.No. 120H01265
9. Heparin : Sigma Chemical Co,U.S.A., Cat.No. H3125 , Lot.No. 51H0480
10. Hepese : Sigma Chemical Co,U.S.A., Cat.No. H3375 , Lot.No. 64H5727
11. Orcein : Fluka , Cat.No.75410
12. Hank' s balance salt solution : Gibco BRL,U.S.A., Cat.No. 14170-013 , Lot.No. 28No154
13. Streptomycin : Dumex , Cat.No. 1313/91 , Lot.No. 30/8/1991
14. Pegemex : Dumex , Cat.No. 2AM11 , Lot.No. 1A37/26
15. Albumin ,Bovine : Essential fatty acid free : Sigma Chemical Co,U.S.A.,
Cat.No. A-6003 , Lot.No. 124H9310
16. Albumin , Bovine : Fraction V : Sigma Chemical Co,U.S.A., Cat.No. A-9647 ,
Lot.No. 44H0190
17. Fetal calf bovine serum : Gibco BRL,U.S.A., Cat. No. 26140-012 , Lot.No. 36K0545
18. Inra Menezo B₂ : Laboratoire C.C.D.

รายการอุปกรณ์

1. Centrifuge : ALC centrifugette, model 4206
2. Co₂ incubator : Napco E-series, model 5100
3. Hotplate magnetic stirrer : Sinjders, model 34532
4. 4-well platidisc : Nunclon, Denmark, Cat.No. 176740
- pH-meter : Schott, Germann, CG 840
- Pipette man : Gilson medical electric, France

การเตรียมน้ำยาเพื่อใช้ในการทดลอง

I.MATURATION MEDIA (IVM-MEDIA)

องค์ประกอบ

1. TCM 199 bicarbonate
2. Fetal Calf Serum (FCS)
3. Oestradiol (E_2) $17-\beta$
4. FSH/LH

วิธีเตรียม

1. ทำการระเหิด (evaporation) $17-\beta$ Oestradiol จำนวน 100 μ l ที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
2. จากนั้นเติม TCM 199- $NaHCO_3$ จำนวน 9 มล. พร้อมด้วย FCS 1 มล และ 100 μ l. ของ FSH/LH
3. กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง 0.45 ไมครอนแล้วนำไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส ประกอบด้วย 5% คาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศนาน 2 ชั่วโมงก่อนใช้

II.CAPACITATION MEDIA(TALP)

องค์ประกอบ

1. Sodium chloride (NaCl)	0.582 กรัม
2. Sodium di-hydrogen phosphate(NaH_2PO_4)	0.0048 กรัม
3. Sodium hydrogen carbonate($NaHCO_3$)	0.21 กรัม
4. Potassium chloride(KCl)	0.0235 กรัม
5. Calcium chloride($CaCl_2$)	0.0294 กรัม
6. Magnesium chloride($MgCl_2$)	0.0223 กรัม
7. HEPES	0.238 กรัม
8. Sodium-Lactate	0.368 มล.
9. Phenol	0.002 กรัม

วิธีเตรียม

1. ละลายสารเคมีทั้งหมดในน้ำกลั่น 100 มล. จากนั้นนำไปกรองด้วยหัวกรองขนาด 0.45 ไมครอนและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

- เมื่อต้องการใช้ให้นำสารละลายในข้อ 1 จำนวน 14.2 มล. มาเติม BSA fraction V 0.09 กรัม Gentamycin 150 μ l. Pyruvate 750 μ l.
- จากนั้นปรับ pH เป็น 7.2 แล้วกรองผ่านด้วยกระดาษกรอง 0.45 ไมครอนแล้วนำไปเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส ประกอบด้วย 5% คาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศ นาน 2 ชั่วโมงก่อนใช้

III.FERTILIZATION MEDIA(IVF-MEDIA)

องค์ประกอบ

1. Sodium chloride (NaCl)	0.6662 กรัม
2. Sodium di-hydrogen phosphate(NaH_2PO_4)	0.0048 กรัม
3. Sodium hydrogen carbonate(NaHCO_3)	0.21 กรัม
4. Potassium chloride(KCl)	0.0235 กรัม
5. Calcium chloride(CaCl_2)	0.0294 กรัม
6. Magnesium chloride(MgCl_2)	0.0101 กรัม
7. Sodium lactate 60 %	0.186 มล.
9. Phenol	0.002 กรัม

วิธีเตรียม

- ละลายสารเคมีทั้งหมดในน้ำกลั่น 100 มล. จากนั้นนำไปกรองด้วยหัวกรองขนาด 0.45ไมครอน และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- เมื่อต้องการใช้ให้นำสารละลายในข้อ 1 จำนวน 15.0 มล. มาเติม BSA fraction V 0.09 กรัมและ Pyruvate 150 μ l.
- จากนั้นปรับ pH เป็น 7.6 แล้วกรองผ่านด้วยกระดาษกรอง 0.45 ไมครอนแล้วนำไปเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส ประกอบด้วย 5% คาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศ นาน 2 ชั่วโมงก่อนใช้

TCM 199 HEPES(Maintenance media)

องค์ประกอบ

1. TCM-199(powder,Gibco BRL 071-01100A)	1	ซอง
2. Sodium hydrogen carbonate (NaHCO_3)	0.35	กรัม/ลิตร
3. Penicillin-G	0.06	กรัม/ลิตร
4. Streptomycin	0.05	กรัม/ลิตร
5. HEPES	4.766	กรัม/ลิตร

วิธีเตรียม

สารละลายที่ 1 : ละลาย TCM-199 1 ซอง พร้อมกับ Sodium hydrogen carbonate และ Penicillin Streptomycin ในน้ำกลั่น 900 มล.

สารละลายที่ 2 : ละลาย Hepes จำนวน 4.677 กรัม/ลิตร ในน้ำกลั่น 100 มล

จากนั้นค่อยๆรินสารละลายที่ 2 ลงในสารละลายที่ 1 อย่างช้าๆ แล้วผสมสารละลายทั้ง 2 ให้เข้ากันปรับ pH เป็น 7.35 กรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมครอน เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส นำมาอุ่นที่ 39 องศาเซลเซียสก่อนใช้

IV.TCM-199 BICARBONATE(Culture media)

องค์ประกอบ

1. TCM-199 (power,Gibco BRL-071-01100A)	1	ซอง
2. Sodium bicarbonate (NaHCO ₃)	2.2	กรัม/ลิตร
3. Penicillin-G	0.06	กรัม/ลิตร
4. Streptomycin	0.05	กรัม/ลิตร

วิธีเตรียม

1. ละลาย TCM-199 1 ซอง พร้อมกับ Sodium hydrogen carbonate และ Penicillin Streptomycin ในน้ำกลั่น 1000 มล.

2. จากนั้นให้เข้ากัน กรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมครอน ปรับ pH เป็น 7.2 เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส

V. INRA MENEZO B₂ MEDIUM

องค์ประกอบ

1. Mineral salt : KCl, NaCl, MgSO₄, NaHCO₃, Na₂HPO₄, KH₂PO₄
2. Amino acid : Asparagine, threonine, serine, glutamic acid, glycine, alanine, taurine, citrulline, valine, cystine, methionine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, ornithine, lysine, tryptophan, arginine, histidine, proline, cysteine
3. Bovine albumine 10 กรัม/ลิตร
4. Lipids : Cholesterol
5. Sugar and metabolic by product : Glucose, pyruvate, lactate, acetate
6. Vitamine and ascorbic acid
7. Purine and pyrimidine base

8. Antibiotics : Penicillin G, Streptomycin

9. Phenol red 1.5%

10. pH : 7.2-7.5

11. Osmolarity : 275-305 milliosmole/Kg.



ประวัติผู้เขียน

นายรังสี อคฺลยานูภาพ เกิดเมื่อวันที่ 4 มิถุนายน 2509

จบการศึกษาชั้นประถมศึกษาจาก โรงเรียนอัสสัมชัญ ธนบุรี เมื่อปีพ.ศ. 2521

จบการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาจาก โรงเรียนเทพศิรินทร์เมื่อปีพ.ศ. 2527

และได้รับปริญญาสัตวแพทยศาสตรบัณฑิต จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เมื่อปีพ.ศ. 2533

ปัจจุบันศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ ฐานเวช
วิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย