หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความพยายามในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมในหลอดทดลองเริ่มต้นมานานกว่า 100 ปีแล้ว

Schenk (1880) ได้นำเอ็มบริโอ กระต่ายและหนูตะเภามาเพาะเลี้ยงและสังเกตเห็นการแบ่งเซลล์เป็นครั้งแรก แต่การเพาะเลี้ยงยังไม่ประสบความสำเร็จมากนัก จนกระทั่ง 50 ปีต่อมาได้มีนักวิจัยให้ความสนใจในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมมากขึ้น ซึ่งในขณะนั้นมีนักวิจัยหลายกลุ่มได้ประสบความสำเร็จในเทคนิคของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้งานวิจัยทางด้านนี้ก้าวหน้ามากขึ้น

Hammond (1949) เป็นบุคคลแรกที่ได้ประสบความสำเร็จในการทดลองเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ในหลอดทดลอง แต่เขาทำได้เพียงบางระยะเท่านั้น โดยใช้น้ำเกลือที่เติม กลูโคส และไข่ขาว ปรากฏว่าไม่มีเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ที่จะสามารถเจริญจากระยะ 2-เซลล์ ไปเป็นเอ็มบริโอระยะ 4 เซลล์ ได้เลย แต่เอ็มบริโอระยะ 8-เซลล์ สามารถเจริญไปถึงระยะบลาสโตซีสได้หลังจากเพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลานาน 42-52 ชั่วโมง

Whitten (1956) พบว่าความต้องการสารที่เป็นแหล่งพลังงานในน้ำยาเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาซ์จะมีความจำเพาะที่ระยะ 1-เซลล์ เอ็มบริโอจะมีความต้องการสารต่าง ๆ ที่มีความจำเพาะสูงกว่าระยะอื่น ๆ เช่น ไพรูเวต ออกซาโลอะซีเตต แลกเตต และฟอสโฟอีนอลไพรูเวตแต่ไม่ต้องการกลูโคสเลย ต่อมา Whitten และ Biggers (1968) ประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเมาซ์เอ็มบริโอ จากระยะ 1 เซลล์ถึงบลาสโตซีสในหลอดทดลองได้เป็นครั้งแรก โดยเพาะเลี้ยงใน simple chemically defined Medium ที่เติมแลกเตต ไพรูเวต และผลึก bovine albumin ที่ความเข้มข้น 4 มก/มล. น้ำยาเพาะเลี้ยงที่ใช้มีค่า osmolality 242 มิลลิออสโมล/กก. แต่พบว่าประสบ

ความสำเร็จในหนูเมาซ์เพียงบางสายพันธุ์เท่านั้น

Brinster (1972) พบว่าเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ที่ระยะก่อนการฝังตัวมีการเปลี่ยนแปลงการใช้สารที่เป็นแหล่งพลังงานอย่างค่อยเป็นค่อยไป เอ็มบริโอที่ระยะ 1-เซลล์ ต้องการ ไพรูเวต หรือ ออกซาโลอะซีเตต ในน้ำยาเพาะเลี้ยง แต่ที่ระยะ 2-เซลล์จะใช้สารได้มากกว่าดังนี้ แลกเตต และ ฟอสโฟอีนอลไพรูเวต หลังจากระยะ 8 เซลล์ เอ็มบริโอจะสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้และจะเจริญต่อไปได้เมื่อมีกลูโคสหรือสารที่เป็นแหล่งพลังงานอื่น ๆ เช่น ไพรูเวต ออกซาโลอะซีเตต, แลกเตค, ฟอสโฟอีนอลไพรูเวต, มาเลต α คีโตกลูตาเรต,อะซีเตตและซิเตรต

ในปัจจุบันเอ็มบริโอของสัตว์หลาย ๆ ชนิด เช่น กระต่าย, หนูถีบจักร, แกะ, โค และคนสามารถเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองได้ทุก ๆ ระยะก่อนการฝังตัวของตัวอ่อน เทคนิคต่าง ๆ ได้มีการพัฒนาขึ้นอย่างกว้างขวางและน้ำยาเพาะเลี้ยงหลายชนิดได้รับการพัฒนาให้มีความเฉพาะเจาะจงกับสัตว์แต่ละชนิด

นักวิทยาศาสตร์ได้ให้ความสนใจในการค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับสารที่เป็นแหล่งพลังงานในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีผลต่อการเจริญของเอ็มบริโอตั้งแต่ระยะ 1-เซลล์ ถึงบลาสโตซีสในหลอดทดลอง ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิดมานานกว่า 30 ปีแล้วดังตารางข้างล่าง

ชนิดของสัตว์	ผู้ศึกษาวิจัย
1. หนูเมาซ์	Whitten และ Biggers (1968)
	Mukherjee และ Cohen (1970)
2. กระต่าย	Maurer และคณะ (1969)
	Kane และ Foote (1971)
	Ogawa และคณะ (1971)
	Kane (1972)
3. มนุษย์	Edwards และคณะ (1970)
4. แกะ	Tervit และคณะ (1972)
5. โค	Wright และคณะ (1976)

การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ในหลอดทดลองนั้นได้ใช้น้ำยาเพาะเลี้ยงที่ปรับปรุงมาจาก Krebs Ringer Bicarbonate Solution โดยเติมสารที่เป็นแหล่งพลังงาน และสารที่เป็นแหล่งไนโตรเจน สิ่งเหล่านี้ทำให้มีการศึกษาถึงเมแทบอลิซึมของเอ็มบริโอในระยะก่อนการฝังตัว ในสภาวะธรรมชาติที่อยู่ในร่างกาย พบว่าเอ็มบริโอจะมีการเคลื่อนที่จากท่อนำไข่ไปฝังตัวที่มดลูกขณะที่เอ็มบริโอมีการเคลื่อนที่ผ่าน ทั้งท่อนำไข่และมดลูกจะมีการหลั่งสารที่สนับสนุนการเจริญของเอ็มบริโอ ดังนั้นองค์ประกอบของสารต่าง ๆ ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ดีนั้นจะสะท้อนให้เห็นถึงความใกล้เคียงกับธรรมชาติ จึงขอกล่าวถึงองค์ประกอบต่าง ๆ ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีผลต่อการเจริญของเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ดังนี้

1. ไอออน

ไอออนต่าง ๆ ที่พบในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีผลต่อการเจริญของเอ็มบริโอได้แก่ Na^+, K^+, Ca^{2+} Mg^{2+}, Cl^-, PO^{3-} และ HCO_3^-

Wales (1970) พบว่าปริมาณที่เหมาะสมของรูบิดัสเซียม, แคลเซียม, แมกนีเซียม และ ฟอตเฟตจะใกล้เคียงกับใน ซีรัม

Whitten (1971) และ Ducibella และ Anderson (1975) พบว่าแคลเซียมเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับความมั่นคงของเยื่อหุ้มเซลล์และการคัดเลือกสารให้เป็นไปอย่างปกติ นอกจากนี้ยังมีผลต่อความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์ด้วยกันในขณะที่เกิด การเกาะยึดของเซลล์ (Compaction) ในช่วงมอรูลาให้เป็นไปอย่างปกติ

Whitten และ Biggers (1968) พบว่า Simple Chemically defined Medium มี ความเข้มข้น 242 mOsm/kg สามารถสนับสนุนการเจริญไซโกต ของ F1 hybrid mouse ให้เจริญไปเป็น บลาสโตซีส

2. คาร์บอนไดออกไซด์

Graves และ Biggers, (1970) พบว่าเอ็มบริโอของหนูเมาซ์จะใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนระหว่างการเจริญที่ระยะ 8-เซลล์

ถึงระยะบลาสโตซิส ซึ่งในช่วงนี้จะมีการนำคาร์บอนเข้าไปในเซลล์เพิ่มมากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของขบวนการเมแทบอลิซึมในระยะนี้ ต่อมา Brinster (1972) ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบการใช้เปอร์เซนต์ของคาร์บอนไดออกไซด์ในตู้เพาะเลี้ยงในช่วง 1-10% คาร์บอนไดออกไซด์ พบว่า คาร์บอนไดออกไซด์ที่ 5% จะให้ผลดีที่สุดในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาซ์

3. ไบคาร์บอเนต

Graves และ Biggers (1970) ศึกษาผลของ ไบคาร์บอเนตต่อการเจริญของเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ในแง่มุมอื่น ๆ นอกจากใช้เป็นตัวควบคุมความเป็นกรดเป็นด่าง โดยการติดฉลากสารกัมมันตภาพรังสีที่โมเลกุลของไบคาร์-บอเนตในน้ำยาเพาะเลี้ยง ติดตามการกระจายของสารในตัวเอ็มบริโอที่ระยะ 2-เซลล์ พบว่าส่วนใหญ่จะเข้าไปเป็นองค์ประกอบในโปรตีนแต่ที่ระยะ 8-เซลล์ถึงบลาสโตซีส พบว่า ส่วนใหญ่แล้วจะเข้าไปอยู่เป็นองค์ประกอบของ DNA และ RNA Quinn และ Wales (1971) พบว่า ไบคาร์บอเนต นอกจากจะทำให้ pH ในน้ำยาเพาะเลี้ยงคงที่แล้ว ยังมีผลในการสนับสนุนการเจริญของเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ในหลอดทดลองให้เจริญไปถึงบลาสโตซีสและยังส่งเสริมให้บลาสโตซีสขยายขนาดก่อนที่จะหลุดออกจาก โซนาเพลลูซิดา

Brinster (1972) ได้ทดลองใช้ buffers ชนิดอื่นแทนไบคาร์บอเนต ได้แก่ Tris, Phosphate, Hepes หรือ TES พบว่าการเจริญของเอ็มบริโอหนูเมาซ์ไม่ดีเท่าการเจริญในน้ำยาที่มีไบคาร์บอเนตเป็น buffers จากจุดนี้เขาได้สรุปว่า หน้าที่ ไบคาร์บอเนต น่าจะมีมากกว่าการปรับค่า pH ให้คงที่ในน้ำยาเพาะเลี้ยง

Quinn และ Wales (1973) ได้ทำการทดลองเลี้ยงเอ็มบริโอระยะ 2-เซลล์ ของหนูเมาซ์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ใช้ phosphate-buffered พบว่าเอ็มบริโอที่เจริญเป็นบลาสโตซีสลดลงอย่างชัดเจน

Cross (1974) ได้แสดงให้เห็นว่า ไบคาร์บอเนต มีความจำเป็นสำหรับบลาสโตซีสของกระต่ายในช่วงก่อนที่จะหลุดออกจากโซนาเพลลูซิดา

Kane (1975) พบว่าเอ็มบริโอของกระต่ายเจริญจากระยะ 2-เซลล์ ถึง มอรูลา ได้ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ใช้ HEPES-buffered แทนไบคาร์บอเนต แต่ไบคาร์บอเนตจะเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเจริญไปถึงระยะบลาสโตซีส

Brinster และ Troike (1979) พบว่าในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ในหลอดทดลอง ไบคาร์บอเนตเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการสังเคราะห์ไพริมิดีน ภายในตัวเอ็มบริโอและความต้องการอันนี้ได้แสดงให้เห็นอย่างเด่นชัดที่ระยะปลายมอรูลาก่อนจะเป็นบลาสโตซีส เนื่องจากเป็นระยะเวลาที่มีการเพิ่มการสังเคราะห์ RNA

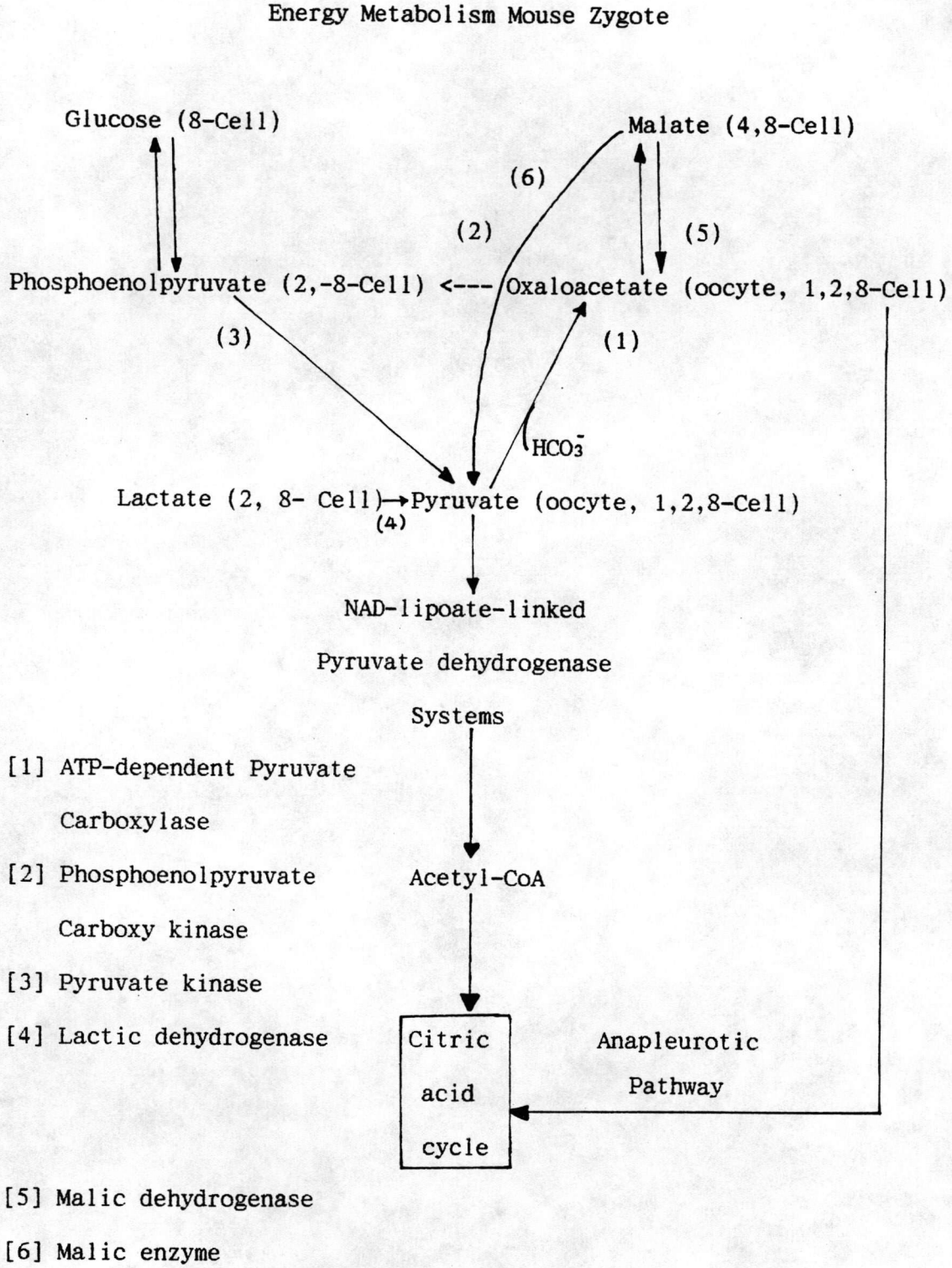
4. แลกเตต, ไพรูเวต และ สารที่ใช้เป็นตัวกลางในวัฏจักรเครบส์

Brinster (1965) ได้ศึกษาถึงผลของ ไพรูเวต และ แลกเตต ที่ผสมกันอยู่ในน้ำยาเพาะเลี้ยงพบว่าสารทั้ง 2 ชนิด ต้องมีอยู่ในปริมาณที่พอเหมาะ ถ้ามีมากเกินไปจะทำให้เกิดผลเสียต่อเอ็มบริโอ เช่น เมื่อมี ไพรูเวต ในความเข้มข้นสูง ๆ จะยับยั้งการเจริญที่ระยะบลาสโตซิส เขาได้อ้างถึงอัตราส่วนของแลกเตต/ไพรูเวต อาจจะมีความจำเป็นในการรักษาสมดุลย์ของ ออกซิเดชั่น - รีดักชัน (oxidation - reduction) ของเอ็มบริโอ และมีความสัมพันธ์กับการใช้ออกซิเจนที่แตกต่างกันในแต่ละช่วงของการเจริญ โดยช่างต้นระดับของออกซิเจนที่ 5% จะให้ผลต่อการเจริญดี แต่หลังจากระยะ 2- เซลล์ไปแล้ว ระดับของออกซิเจนที่ 20% จะให้ผลดีที่สุด

Brinster และ Thomson (1966) ได้ศึกษาการเจริญของเมาซ์เอ็มบริโอในหลอดทดลอง พบว่า ไพรูเวต และ ออกซาโลอะซีเตต จะสนับสนุนการเจริญของเอ็มบริโอที่ระยะ 2-เซลล์ และ 8-เซลล์ และ เขายังพบว่าสารที่เป็นตัวกลางให้วัฏจักรเครบส์ เช่น มาเลต, ซิเตรต และ คีโตกลูตาเรต สามารถสนับสนุนเอ็มบริโอที่ระยะ 8-เซลล์ไปถึงบลาสโตซีส แต่ถ้ามี ซัคซิเนต เพียงอย่างเดียวจะไม่สามารถเจริญถึงระยะบลาสโตซิสได้

Biggers และคณะ (1967) ได้กล่าวว่าความต้องการสารที่เป็นแหล่งพลังงานในน้ำยาเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ในระยะที่เป็นไข่และเอ็มบริโอที่ระยะ 1 เซลล์ คล้ายคลึงกัน คือใช้ ไพรูเวตและ ออกซาโลอะซีเตต

เป็นสารที่สนับสนุนการเจริญส่วนตอนปลายระยะ 2-เซลล์ เอ็มบริโอ สามารถใช้แลกเตต, ไพรูเวต, ฟอสโฟอีนอลไพรูเวต และ ออกซาโลอะซีเตต และที่ระยะ 8-เซลล์สามารถใช้ กลูโคส, มาเลต และ ซีโตกลูตาเรต ได้ เขาได้สรุปไว้ว่าในแต่ละระยะของการเจริญ เอ็มบริโอมีการสร้างเอ็มไซม์ตัวใหม่เพื่อสนับสนุนขบวนการเมแทบอลิซึมใหม่ ๆ ซึ่งอาจจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ ตัวอย่างเช่น การศึกษาด้วย C^{14}-L-Malate ในน้ำยาเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ที่ระยะ 2-เซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์จะไม่ยอมให้สารนี้ผ่านเข้าไปได้แต่ที่ระยะ 8-เซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์จะยินยอมให้มีการผ่านของสารนี้โดยวิธี active transport ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 องค์ประกอบของสารที่เอ็มบริโอของหนูเมาซ์สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน และความสัมพันธ์กับขบวนการเมแทบอลิซึม (Biggers, Whittingham และ Donahue, 1967)

Auerbach, และ Brinster (1968) พบว่า แลกเตต จะให้ผลในด้านลบหากปรากฏอยู่ระหว่างการแบ่งเซลล์ครั้งแรกของเมาซ์เอ็มบริโอและจะให้ผลบวกเมื่อมีแลกเตตที่ระยะ 2-เซลล์ การทดลองนี้แสดงถึงความแตกต่างระหว่างระยะของการเจริญที่มีผลต่อการนำแลกเตตไปใช้แยกออกอาจกล่าวได้ว่า แลกเตต เพียงอย่างเดียวไม่สามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานในการสนับสนุนการเจริญของเอ็มบริโอหนูเมาซ์ในการแบ่งเซลล์ครั้งแรก สาเหตุอาจจะเกิดจากการที่เอ็มบริโอมีปริมาณของ NAD^+ น้อยไม่เพียงพอที่จะเปลี่ยน แลกเตต เป็นไพรูเวต เป็นที่ทราบกันว่า ไพรูเวต จะถูกเปลี่ยนไปเป็นอะซีติลโคเอ ปฏิกริยานี้เป็นตัวเชื่อมระหว่างไกลโคไลซีสและวัฏจักรเครบส์เกิดขึ้นในเมทริกซ์ของไมโตคอนเดรีย เมื่อมีแลกเตตสะสมในตัวเอ็มบริโอมากขึ้น จึงเป็นสาเหตุในการลดความสามารถในการเจริญจากระยะ 1-เซลล์ไปเป็น 2-เซลล์ แต่เมื่อมีการแบ่งเซลล์ครั้งแรกแล้ว แลกเตต อาจถูกเปลี่ยนเป็น ไพรูเวต มากขึ้น ทำให้ไม่มีการสะสมของแลกเตต ในตัวเอ็มบริโอและไม่ทำให้เกิดผลทางด้านลบต่อการเจริญ

Wales และ Whittingham (1974) ได้แสดงให้เห็นว่าแลกเตตแพร่เข้าสู่เอ็มบริโอของหนูเมาซ์ได้อย่างอิสระ ดังนั้นความเข้มข้นของสารตัวนี้ภายในเอ็มบริโอ จะถูกกำหนดโดยความเข้มข้นของสารในน้ำยาเพาะเลี้ยง ส่วนการติดฉลาก ไพรูเวตด้วยสารกัมมันตภาพรังสีจะไม่สามารถตรวจพบในเอ็มบริโอ ถึงแม้ว่าจะมีอยู่ในน้ำยาเพาะเลี้ยง สิ่งนี้แสดงให้เห็นว่า ไพรูเวต จะถูกใช้ไปอย่างรวดเร็ว และมีการสะสมภายในน้อย

Nieder และ Corder (1983) พบว่า ปริมาณของแลกเตตในท่อนำไข่จะค่อย ๆ เพิ่มสูงขึ้น ตลอดเวลา 72 ชั่วโมงหลังจากที่มีการตกไข่ ชี้ให้เห็นว่า เอ็มบริโอที่ระยะ 2-เซลล์ ที่เคลื่อนตัวลงมาอยู่ที่อิสธ์มัสอาจจะชักนำให้ตัวแม่รับรู้และมีการเพิ่มปริมาณของแลกเตตในท่อนำไข่

5. กลูโคส

Brinster (1965) พบว่า กลูโคส จะมีความเป็นพิษต่อการเจริญของเอ็มบริโอหนูเมาซ์ที่ระยะ 1- และ 2-เซลล์ ถ้าไม่เติมกลูโคสในน้ำยา

เพาะเลี้ยงระหว่าง 48 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาซ์จะเจริญดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

Biggers, Whittingham และ Donahue (1967) พบว่ากลูโคสสามารถสนับสนุนการเจริญของเอ็มบริโอที่ระยะ 8-เซลล์ แต่ไม่สนับสนุนที่ระยะ 2-เซลล์ สิ่งนี้อาจจะชี้ให้เห็นว่า กระบวนการไกโคไลซีส จะเริ่มทำงานมากขึ้นที่ระยะ 8-เซลล์ รายละเอียดเกี่ยวกับเรื่องนี้ อาจจะอ้างถึงแต่ละระยะของเอ็มบริโอ อาจจะมีการเปลี่ยนแปลงความสามารถของเยื่อหุ้มเซลล์ในการเลือกผ่านของสารบางชนิดหรือมีการเปลี่ยนแปลงการทำงานเอ็มไซม์ในตัวเอ็มบริโอ

Brinster (1969) พบว่า เอ็มบริโอของหนูเมาซ์ที่ระยะบลาสโตซีส มีการนำ ไพรูเวตและกลูโคส เข้าไปในเซลล์ เพิ่มมากขึ้น แต่พบว่ามีการนำกลูโคสเข้าสู่เอ็มบริโอ มากว่าไพรูเวต และมีการเพิ่มกระบวนการเมแทบอลิซึมของกลูโคส ในระยะบลาสโตซีส โดยมีไกลโคไลซีส เป็นกระบวนการสำคัญ

Graves และ Biggers (1970) : Quinn และ Wales (1971) ได้ศึกษาการเจริญเอ็มบริโอของหนูเมาซ์พบว่า เอ็มบริโอจะนำสารที่เป็นแหล่งพลังงานที่มีอยู่ในน้ำยาเพาะเลี้ยงเข้าไปมากขึ้นหลังจากระยะ 2-เซลล์ ถึง 8-เซลล์ ของการเจริญโดยพบว่ามีการนำกลูโคสเข้าไปมากกว่าไพรูเวตที่ระยะ 8-เซลล์ โดยตรวจพบ [U-^{14}C] ที่ติดฉลากกับกลูโคส เข้าไปอยู่ในองค์ประกอบของ โปรตีน, กรดนิวคลีอิก และ ไขมัน

Murdoch และ Wales (1973) ศึกษาการนำ [U-^{14}C] กลูโคสในน้ำยาเพาะเลี้ยง เอ็มบริโอของหนูเมาซ์พบว่าคาร์บอนที่ติดฉลากจะเข้าไปรวมเป็น RNA โดยตรวจพบที่ S-RNA และ r-RNA

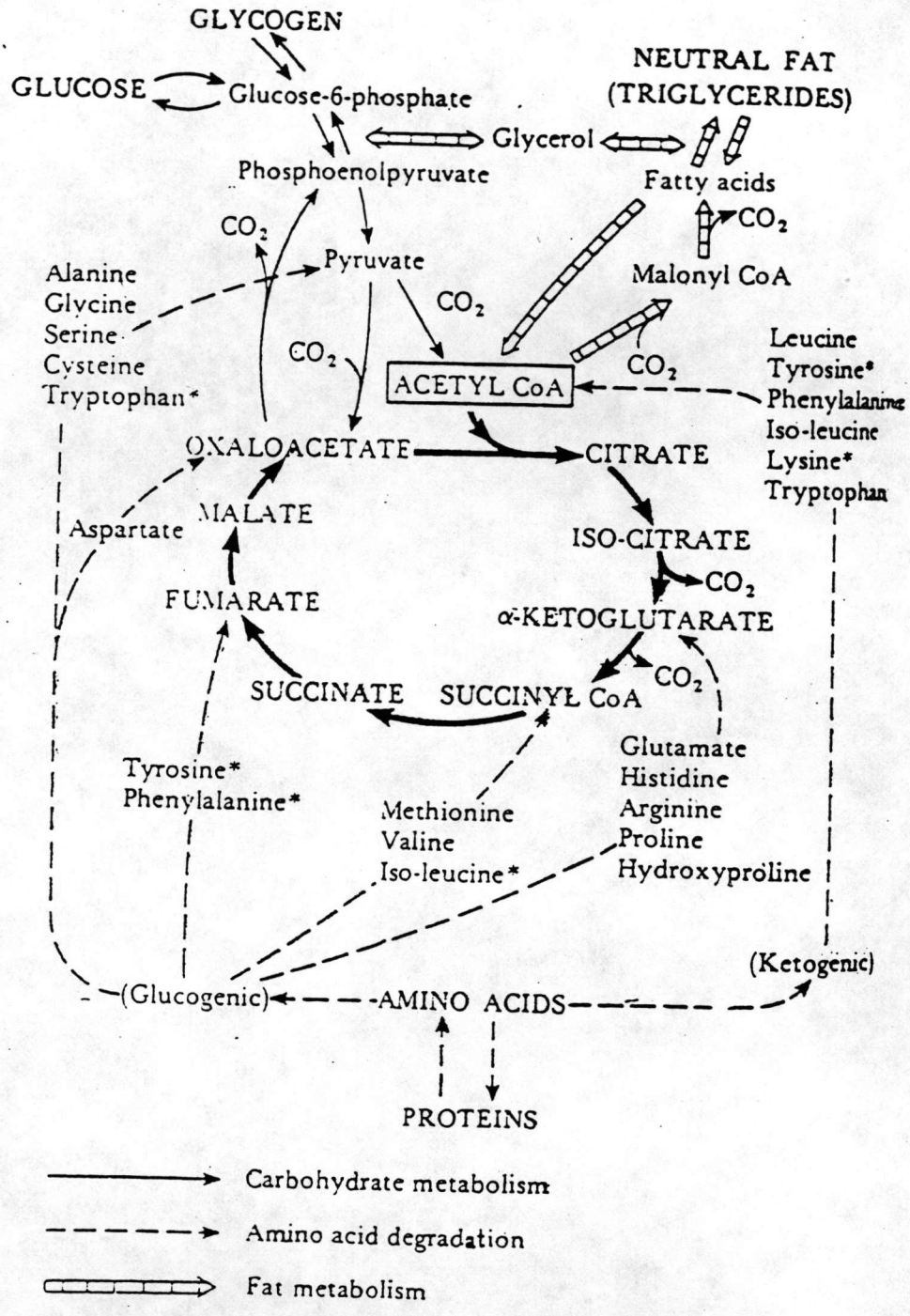
6. กรดอะมิโน

Mintz (1964) ทำการทดลองติดฉลากสารกัมมันตภาพรังสี ลูซีนที่เติมลงในน้ำยาเพาะเลี้ยง พบว่าเอ็มบริโอของหนูเมาซ์จะมีการนำกรดอะมิโนเข้าไปในเซลล์ต่ำในระยะแรกแต่จะเพิ่มการนำเข้าที่ระยะ 8-16-เซลล์และเพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงมอรูลา และบลาสโตซีส

Brinster (1965) ได้เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ในหลอดทดลองโดยมี อัลบูมิน (albumin) เป็นแหล่ง ไนโตรเจนของกรดอะมิโน เพียงอย่างเดียวพบว่าเอ็มบริโอก็สามารถเจริญได้ดีตั้งแต่ 2-เซลล์ ถึงบลาสโตซีส ทำให้เขาอ้างว่า เอ็มบริโออาจจะไม่ต้องการกรดอะมิโนจากภายนอกสำหรับการเจริญ โดยอัลบูมิน และ โปรตีนในซีรัม (serum protein) อาจทำหน้าที่รักษาสภาพสมดุลย์ของโปรตีนที่เยื้อหุ้มเซลล์ ในการป้องกันการไหลออกของกรดอะมิโนจากภายในเซลล์ นอกจากนี้ Brinster และ Thomson (1966) ได้ค้นพบว่าเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ที่ระยะ 8-เซลล์ถึงมอรูลา มีปริมาณของโปรตีนที่สะสมอยู่ในเซลล์ลดลง ดังนั้นดูเหมือนว่าเอ็มบริโอที่ระยะ 8-เซลล์ สามารถใช้โปรตีนที่สะสมในเซลล์เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญถึงบลาสโตซีสในหลอดทดลอง ส่วนกรดอะมิโนที่อยู่ในน้ำยาเพาะเลี้ยงอาจเป็นสารที่ใช้สนับสนุนและใช้เป็นแหล่งพลังงานก็ได้แต่เอ็มบริโอที่ระยะ 2-เซลล์ และ 8-เซลล์มีความสามารถในการนำแหล่งไนโตรเจน จากภายนอกเข้ามาใช้ต่างกัน โดยพบว่าถ้านำ อัลบูมิน, ซีรัมโปรตีน, กรดอะมิโน ออกจากน้ำยาเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอที่ระยะ 2-เซลล์ เอ็มบริโอจะตายภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามที่ระยะ 8-เซลล์ เอ็มบริโอจะอยู่รอดได้อีก 48 ชั่วโมง ชี้ให้เห็นว่าเอ็มบริโอที่ระยะ 2 เซลล์ ต้องการสารที่เป็นแหล่งไนโตรเจน บางตัวเพื่อตอบสนองความต้องการที่เพิ่มขึ้นขณะที่มีการเจริญ สิ่งนี้อาจเป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของการทำงานของเอนไซม์ จากระยะ 2-เซลล์ ถึง 8-เซลล์ ต่อมาได้ทำการทดลองเกี่ยวกับกรดอะมิโนต่อการเจริญของเมาซ์เอ็มบริโอที่ระยะ 8-เซลล์ ในหลอดทดลองเขาพบว่ามีกรดอะมิโน 6 ชนิดที่สนับสนุนการเจริญจากระยะ 8-เซลล์ จนถึงบลาสโตซีส ได้แก่ แอสปาร์ติก แอสปาราจีน กลูตามีน ไกลซีน โปรลีน และ ธรีโอนีนมีเพียง 4 ชนิดที่ไม่สนับสนุนการเจริญ ได้แก่ ไทโรซีน ทริปโตเฟน อาร์จินีนและ ไอโซ-ลิวซีน เขาได้สรุปว่าควรมีอัลบูมิน หรือ องค์ประกอบของกรดอะมิโนควรจะมีอยู่ในน้ำยาเพาะเลี้ยงเพื่อให้เอ็มบริโอที่ระยะ 2-เซลล์ เจริญไปถึงระยะบลาสโตซีสได้ ถ้ามีเพียงกรดอะมิโนตัวใดตัวหนึ่งเพียงตัวเดียว การแบ่งเซลล์มีข้อจำกัดมาก และมีเพียงบางโอกาสเท่านั้นที่เอ็มบริโอ ระยะ 2-เซลล์ จะเจริญถึงบลาสโตซีสได้

Mills และ Brinster (1967) พบว่าเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ที่ระยะ 8-เซลล์ มีการเพิ่มการสะสมโปรตีนภายในเซลล์พร้อมกับการเพิ่มการสังเคราะห์ RNA

Cholewa และ Whitten (1970) พบว่าการเจริญของเมาซ์เอ็มบริโอระยะ 2-เซลล์ สามารถเจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจนได้จนถึงระยะบลาสโตซีสมีสิ่งที่น่าสนใจว่าในน้ำยาเพาะเลี้ยงจะมี แลกเตต และไพรูเวต ซึ่งเอ็มบริโอ อาจจะนำมาสร้างเป็นกรดอะมิโนได้ เพราะเป็นที่ทราบกันว่าสารตัวกลางในวัฏจักรเครบส์ นอกจากจะให้พลังงานแล้ว ยังใช้เป็นสารตั้งต้น สำหรับการสังเคราะห์สารต่าง ๆ ได้ดังรูป 1.2



รูปที่ 1.2 แสดงวิถีร่วมของเมแทบอลิซึม

(ประเสริฐ ศรีไพรจน์ , 2530)

แต่จำนวนเอ็มบริโอที่หลุดออกจากโซนาเพลลูซิดาลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เป็นไปได้ที่เอ็มบริโอไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันที่จำเป็นต่อการหลุดออกจากโซนา-เพลลูซิดา ซึ่งต้องได้รับจากภายนอกเท่านั้น

Brinster (1971) ศึกษาความสำคัญของกรดอะมิโน ลูซีนและกลูตามีนต่อการเจริญของเอ็มบริโอหนูเมาซ์ในหลอดทดลอง โดยใช้วิธีติดฉลากกรดอะมิโนด้วยสารกัมมันตภาพรังสี พบว่าอัตราการนำ กรดอะมิโนเข้าต่ำในช่วงระยะ 2-เซลล์จะต่ำ แต่จะเพิ่มขึ้นที่ระยะ 8-เซลล์ และมีการนำกรดอะมิโนไปใช้สังเคราะห์สารต่าง ๆ มากกว่าในช่วง 2-เซลล์ถึง 10 เท่า โดยเฉพาะช่วงมอรูลาพบว่าจะมีกระบวนการเมแทบอลิซึมเพิ่มขึ้นสูงสุด การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ต่อกรดอะมิโน อาจเกิดจากแหล่งสะสมกรดอะมิโนในเอ็มบริโอ ถูกใช้ไปมากจึงกระตุ้นให้มีการนำสารจากภายนอกเข้ามาทดแทน หรือเมื่อเอ็มบริโอเจริญมากขึ้นทำให้มีการสร้างเอ็นไซม์ชนิดใหม่ทำให้เกิดกระบวนการเมแทบอริซึมใหม่ ๆ จึงจำเป็นต้องนำสารชนิดใหม่เข้ามาในเอ็มบริโอ

7. Bovine Serum Albumin (BSA)

Fredrickson และ Gordon (1958) พบว่าหน้าที่หลักของอัลบูมินในเลือดจะเป็นตัวพาสารโมเลกุลเล็ก ๆ โดยเฉพาะสารที่สามารถละลายได้ในไขมัน เช่น กรดไขมัน (fatty acid) และ สเตอรอยด์ ฮอร์โมน และยังพบว่าในสภาพปกติ อัลบูมิน จะมี กรดปาล์มมิติก (Palmitic acid) และ โอเลอิก (Oleic acid) ยึดเกาะอยู่สูงกว่ากรดไขมันตัวอื่น ๆ

Todaro และ Green (1964) พบว่า การเติมซีรัม อัลบูมินในน้ำยาเพาะเลี้ยงทำให้การเลี้ยงเซลล์ fibroblasts ได้ยาวนานขึ้น

Chen (1966) ได้วิเคราะห์องค์ประกอบของผลึก BSA ที่เตรียมขึ้นมาเพื่อการค้า พบว่า มีกรดไขมันยึดเกาะกับอัลบูมินประมาณ 0.06-2.5 Mol fatty acid/Mol albumin โดยมีโอลิอิกปาล์มิติค ลิโนเลอิก และสเตรียริค ยึดเกาะอยู่ ถึงแม้ว่าจะมีความบริสุทธิ์ของ อัลบูมิน อยู่ 96-99% แต่ยังคงมีสารปนเปื้อนอยู่สูงมาก อาจเกิดจากการที่ อัลบูมิน มีตำแหน่งที่สารอื่น ๆ ที่ไม่จำเพาะ

สามารถยึดเกาะได้มาก ทำให้การสกัดแยกให้ได้อัลบูมินบริสุทธิ์ทำได้ยาก

Hanson และ Ballard (1968) วิเคราะห์ อัลบูมินที่เตรียมจากธรรมชาติจะมีทั้งสารที่สนับสนุนการเจริญ (growth-promoting factors) หรือสารยับยั้งการเจริญ (growth-inhibiting factors) แล้วยังมีซิเตรต, สารกันการตกตะกอน, แลกเตต ไพรูเวต และ ธาตุเหล็กด้วย

Whitten และ Biggers (1968) เป็นผู้เริ่มใช้ผลึก BSA เติมลงในน้ำยาเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาซ์และกระต่ายในหลอดทดลอง

Cholewa และ Whitten (1970) เชื่อว่า BSA มีผลต่อการกำจัดไอออนของโลหะที่เป็นพิษบนเปื้อนอยู่ในน้ำยาเพาะเลี้ยง

Peters และคณะ (1978) วิเคราะห์ BSA ด้วยวิธี eletrophoresis พบว่า BSA มีโปรตีนชนิดต่าง ๆ ปนเปื้อนอยู่สูงและยังมีสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (low molecular weight) หลายชนิดที่เกาะกับ BSA

Kane (1979) แสดงให้เห็นว่ากรดไขมันที่ติดมากับ BSA สามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญของเอ็มบริโอกระต่ายจากระยะ 1 เซลล์ ไปถึงระยะ มอรูลาได้

Kane และ Headon (1980) พบว่าสารที่ปนเปื้อนมากับ BSA นอกจากกรดไขมันแล้วยังมีสารชนิดอื่น ๆ ซึ่งสามารถส่งเสริมให้เอ็มบริโอที่ระยะบลาสโตซีส มีการขยายตัว และหลุดออกมาจากโซนาเพลลูซิดาด้วย

จากที่กล่าวถึงองค์ประกอบของสารต่าง ๆ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง จะพบว่าสิ่งสำคัญคือ ความสอดคล้องระหว่างสารในน้ำยาเพาะเลี้ยงและเมแทบอลิซึมของตัวเอ็มบริโอ ที่อยู่ในระยะก่อนการฝังตัวซึ่งสรุปอย่างกว้าง ๆ ได้ดังนี้

การเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของเอ็มบริโอสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมระยะก่อนการฝังตัวมีการศึกษากันมากในช่วง 30 ปีที่ผ่านมา การศึกษาส่วนใหญ่ทำกับเอ็มบริโอของหนูเมาซ์และกระต่าย จากหลักฐานที่มีชี้ให้เห็นว่า ไข่ที่ยังไม่ได้ปฏิสนธิและไข่ที่มีการปฏิสนธิแล้วมีเมแทบอลิซึมต่ำมาก เมื่อดูจากการใช้ออกซิเจน ไซโกตมีระดับเมแทบอลิซึมสูงกว่าไข่ที่ยังไม่ได้ผสมเพียงเล็กน้อย Wales (1975) ได้ติดตามการเปลี่ยนแปลง พบว่า ไซโกตหนูเมาซ์มีไกลโคไลซีสเพิ่มขึ้น เมแทบอลิซึมในเอ็มบริโอระยะก่อนการฝังตัวจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นช้า ๆ การเปลี่ยน

แปลงสูงสุดพบในเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ในช่วง 8-เซลล์ถึง มอรูลา ซึ่งพบว่ามีการใช้ออกซิเจนเพิ่มมากขึ้น (Mills และ Brinster, 1967)

ในช่วงที่เมแทบอลิซึมเพิ่มขึ้นนี้ มีหลักฐานมากมายที่แสดงว่ามีการเพิ่มอานาบลิกเมแทบอลิซึม (anabolic metabolism) และมีการพัฒนาวิถีเมแทบอลิซึม (metabolic pathways) ใหม่ ๆ ขึ้นใช้ใน เอ็มบริโอ มีการรับเอากรดอะมิโนเข้าไปสังเคราะห์เป็นโปรตีนในเซลล์เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ และการสังเคราะห์ กรดนิวคลีนิค (nucleic acids) ก็เพิ่มมากขึ้น หลักฐานเมแทบอลิซึมที่เพิ่มขึ้นหลากหลายชนิดมาจากการวิเคราะห์ผลจากการที่เอ็มบริโอรับเอาสับสเตรต (Substrate) ประเภท คาร์บอน และ คาร์บอนไดออกไซด์ จากภายนอกเข้ามาสังเคราะห์เป็นสารประกอบคาร์บอนต่าง ๆ ในตัวเอ็มบริโอ ผลจากการกระตุ้นให้เกิดวิถีการสังเคราะห์ (Synthetic Pathways) หลาย ๆ แบบระหว่างการเจริญของเอ็มบริโอในช่วงก่อนการฝังตัวจึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเคมีในตัวเอ็มบริโอมากพอสมควร

ในช่วงปลายระยะก่อนการฝังตัวของหนูเมาซ์ อัตราการเพิ่มเมแทบอลิซึมลดลงเมแทบอลิซึมของบลาสโตซีส (Blastocyst) ระยะต้นกับระยะท้ายต่างกันน้อยมากหรือไม่แตกต่างกันเลย (Epstein และ Smith, 1973) ในระดับเซลล์พบว่า การสังเคราะห์สารบางชนิดจะเพิ่มขึ้นสูงสุดในระยะมอรูลาแล้วลดลงรวดเร็วมากหลังจากนั้น

จากที่ได้กล่าวมาแล้ว จะเห็นได้ว่ามีการพูดถึงสารประเภทกรดไขมันทั้งในน้ำยาเพาะเลี้ยงและกระบวนการเมแทบอลิซึมน้อยมาก เป็นที่ทราบกันดีว่าไขมันมีหน้าที่สำคัญดังนี้

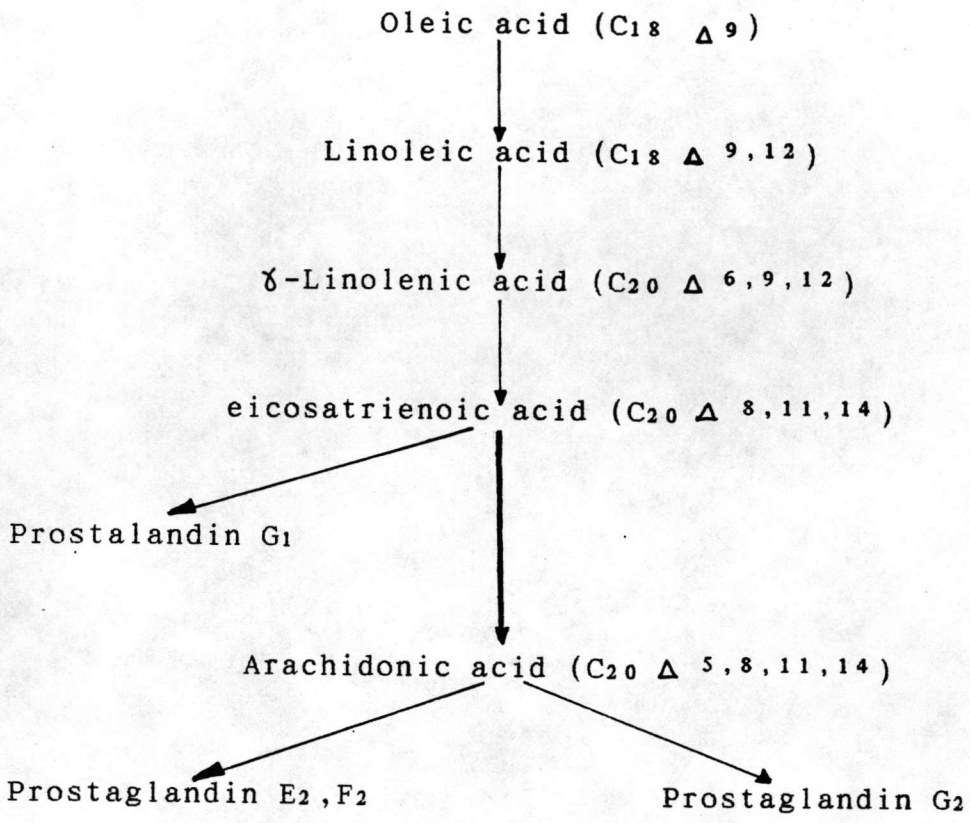
1. เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเซลล์เมมเบรนหรือเยื่อเซลล์
2. เป็นแหล่งสะสมพลังงานซึ่งสะสมไว้ในเนื้อเยื่อไขมัน
3. ทำหน้าที่ในการขนส่งไขมันในเลือดรวมอยู่รวมกับโปรตีนเป็นไลโปโปรตีน (lipoprotein)
4. เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของวิตามิน บางชนิดและสารตั้งต้นของฮอร์โมนบางชนิดด้วย

8. กรดไขมัน

ไขมันเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเซลล์ โดยเฉพาะกลุ่มสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังพบว่าไขมันเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งมีอยู่ในรูปของฟอสโฟลิพิด และโคเลสเตอรอลทำหน้าที่เป็นด่านคัดเลือกสารที่จะผ่านเข้าสู่เซลล์ และมีความจำเป็นต่อการทำงานและการมีชีวิตรอดของเซลล์ ภายในเซลล์ยังมีไขมันอยู่ในรูปไตรกลีเซอไรด์และโคเลสเตอริลเอสเตอร์มีหน้าที่ต่างกัน คือไตรกลีเซอไรด์เป็นแหล่งพลังงานสะสมหรือใช้สำหรับการสังเคราะห์ไขมันให้กับเยื่อหุ้มเซลล์ส่วนโคเลสเตอริลเอสเตอร์ใช้สังเคราะห์อนุพันธ์ของสารพวกสเตรอยด์ จึงกล่าวได้ว่าไขมันเป็นสารที่มีความจำเป็นต่อเซลล์มาก

ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมัน ลิโนเลอิก (linoleic) ($C_{18}H_{32}O_2$) ในร่างกายได้ ปกติสัตว์จะได้รับจากการกินอาหารจำพวกพืช ดังนั้นกรด ลิโนเลอิก จึงเป็นกรดไขมันที่จำเป็น (essential fatly acid) ในยุคแรกอาจรวมกรด อะราคิโดนิก (Arachidonic acid) ($C_{20}H_{32}O_2$) เป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อมาทราบว่าร่างกายสัตว์มีกลไกเปลี่ยนกรด ลิโนเลอิก เป็นกรด อะราคิโดนิก ได้ดังรูปที่ 1.3

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1.3 กระบวนการเปลี่ยนกรดโอเลอิก (Oleic acid) เป็นกรดลิโนเลอิก (Linoleic acid) เกิดขึ้นในพืช ส่วนขบวนการเปลี่ยนกรดลิโนเลอิก (Linoleic acid) มาเป็นกรดอะราคิโดนิก (Archidonic) เกิดขึ้นในสัตว์(อาภัสสรา ชมิดท์, 2537)

จากการศึกษารวบรวมการขาดกรดไขมันที่จำเป็น Spector และคณะ (1981) ได้กล่าวถึงการค้นพบว่ามีมานานกว่า 50 ปีแล้วแต่ผลของการขาดในคนนั้นมีรายงานในปี ค.ศ.1968 โดยมีผลต่อผิวหนัง, การทำงานของปอด (Pulmonary function) ระบบย่อยอาหาร, การทำงานของตับ, การทำงานของเม็ดเลือดแดง, ระบบภูมิคุ้มกันและความต้านทานต่อการติดเชื้อ, การทำงานของระบบสืบพันธุ์และการทำงานของระบบประสาท ในงานวิจัยในระยะหลังได้ค้นพบความสัมพันธ์ที่น่าสนใจระหว่าง กรดไขมันที่จำเป็นและพรอสตาแกลนดิน (Prostaglandin)

ต้น ๆ ปี ค.ศ.1970 Guaynievni และ Johnson ให้ความสนใจเกี่ยวกับกรดไขมันที่จำเป็นในขณะนั้นไม่มีใครรู้ว่าทำไม กรดไขมันที่จำเป็นต้องได้รับจากการกินอาหาร ถ้าขาดจะทำให้เกิดกลุ่มอาการบางอย่างในเวลานั้นยังไม่สามารถชี้ชัดลงไปว่า การขาดกรดไขมันจำเป็นนั้นจะส่งผลต่อระบบสรีรวิทยาส่วนไหนบ้าง ต่อมาพบว่ามีผลต่อการทำงานของไลโปโปรตีนของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane lipoprotein) กรดไขมันที่จำเป็นอาจเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของ Plasma lipid transport complexes ต่อมา Yamanaka และคณะ (1981) ได้รวบรวมงานวิจัยผลของการขาดกรดไขมันที่จำเป็นดังนี้

<u>ผลของกรดไขมันต่อการทำงานของเยื่อหุ้นเซลล์</u>

จากการศึกษาของ Muller และคณะ (1976) ได้อ้างถึงผลของการขาดกรดไขมันที่จำเป็นต่อการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์โดยเฉพาะกรดไขมันที่มีพันธะคู่มากกว่า 1 ตำแหน่ง เช่น ลิโนเลอิก - ลิโนเลนิค - ลิโนเลนิก และอะราคิโดนิค ซึ่งพบว่าเป็นองค์ประกอบของฟอตโฟลิพิดเป็นที่ทราบกันว่าฟอสโฟลิพิดทุกตัวมีหนึ่งหัวโพลาร์ (Polar Head) และ 2 หางไม่โพลาร์ (nonpolar tail) จึงเรียกว่าเป็นแอมพิพาธิก (amphipathic) หรือ โพลาร์ลิปิด ฟอสโฟลิปิดมีหลายชนิดขึ้นอยู่กับกรดไขมัน 2 ตัวที่มาสร้างเอสเตอร์กับหมู่ไฮดรอก-ซิลกลีเซอรอล โดยทั่วไปกรดไขมันที่ C อะตอมที่ 1 ของกลีเซอรอล จะเป็นกรดไขมันอิ่มตัว (C 16 และ C 18 อะตอม) และอีกตัวหนึ่งจะเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว (C 16-20 อะตอม) มีหลักฐานที่น่าสนใจอ้างถึงกรดไขมันที่จำเป็นมีความสำคัญ

ต่อการทำงานที่เป็นปกติของเยื่อหุ้มเซลล์พบว่า คุณสมบัติทางกายภาพของฟอสโฟลิพิด เช่น การอ่อนตัวจะขึ้นกับความยาว (chain length) ของสายกรดไขมัน จำนวนพันธะคู่และตำแหน่งของพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว

Hayashida และ Post man (1960) ทดลองพบว่าเมื่อขาดกรดไขมันที่จำเป็นในน้ำยาเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม จะมีผลกระทบต่อสมบัติของเยื่อหุ้นเซลล์ เมื่อมีกรดลิโนเลอิก (Linoleic) ไม่เพียงพอในการเปลี่ยนเป็นกรดอะราคิโดนิก (Arachidonic) ทำให้เซลล์ ดึงกรดลิโนเลอิก (Linoleic) ที่เป็นองค์ประกอบของฟอสโฟลิพิดมาเปลี่ยนเป็นกรดอะราคิโดนิกผลที่ตามมาคือการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ผิดปกติ ยังมีหลักฐานที่อ้างถึงผลของกรดไขมันที่จำเป็นต่อไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ตับของหนูแรทในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่มีกรดไขมันที่จำเป็นไมโทคอนเดรีย จะเกิดอาการบวมเนื่องจากกระบวนการออกซิเดตีป ฟอสโฟลีเลชั่น (oxidative phosphorylation) บางส่วนไม่สามารถจับ อิเล็กตรอนในกระบวนการลำเลียงอิเล็กตรอน เป็นเหตุให้มีการลดการผลิต ATP ในไมโทคอนเดรียและเกิดอาการบวม ต่อมา Houtsmuller (1975) พบว่าในการเพาะเลี้ยง LM เซลล์ ของหนูเมาซ์ในหลอดทดลองได้แสดงให้เห็นว่าถ้าขาดกรดไขมันที่จำเป็นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับกรดไขมันอิ่มตัวในฟอสโฟลิพิดจากปกติ 63:37 เปลี่ยนเป็น 45-55:52-45 ทำให้ความอ่อนตัวของเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนไปคือ มีความแข็งตัวมากขึ้นเนื่องจากกรดไขมันอิ่มตัวได้เพิ่มสูงขึ้น และยังมีผลต่อการคัดเลือกสารเข้าเซลล์ผิดปกติด้วย เช่นที่กล้ามเนื้อ เยื่อหุ้มเซลล์ จะลดการนำ Ca^{2+} เข้าไปในเซลล์

<u>ผลของกรดไขมันต่อการทำงานในระบบสืบพันธุ์</u>

Burr (1930) ได้พบว่า เมื่อขาดกรดไขมันที่จำเป็นจะมีผลต่อการตั้งท้องและการสืบพันธุ์ในหนูแรท ต่อมา Holman (1970) พบว่า ลูกที่คลอดออกมามีขนาดเล็กกว่าปกติ และลูกที่คลอดออกมาโดยทั่วไปแล้วจะไม่สามารถอยู่รอดได้ กรดไขมันที่จำเป็นอาจไม่ได้เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการตั้งครรภ์ในระยะแรก แต่มีความจำเป็นสำหรับการเจริญอย่างเป็นปกติของฟีตัส และป้องกันการสลายตัว

ของฟีตัส (fetus resorption) อาการผิดปกติเหล่านี้หมดไป เมื่อหนูแรทได้รับกรดลิโนเลอิก และกรดอะราคิโดนิก (Martin และ Slater, 1954)

Evans, Lepkovsky และ Murphy (1954) พบว่าหนูแรทเพศผู้ เมื่อขาดกรดไขมันที่จำเป็นพบว่าจะมีรอกาสเป็นหมันสูง และไม่เข้าผสมกับตัวเมีย ต่อมา Hilderbrandt และ Fawcett (1978) ได้ทดลอง พบว่าเมื่อหนูตัวผู้ได้รับกรดไขมันที่จำเป็นไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกายพบว่าหนูเพศผู้จะเข้าผสมกับตัวเมียแต่โดยทั่วไปแล้วจะไม่ประสบความสำเร็จมีหลักฐานพบการทำลายเซลล์ที่อัณฑะ ซึ่งอาจจะไม่สามารถกลับคืนมาเหมือนเก่า Greenberg และ Ershoff, (1951) หรืออาจจะเกิดจากการที่หนูขาด ลิโนเลนิก ทำให้ไม่สามารถสร้างพรอสตาแกลนดิน (Prostaglandin) ได้ (Greenberg และ Ershoff 1951) เป็นที่ทราบกันดีว่า พรอสแกลนดิน เป็นสารที่สำคัญในสารคัดหลั่งจากระบบสืบพันธุ์ เป็นกรดอินทรีย์ที่ละลายได้ในไขมัน สังเคราะห์ขึ้นในเซลล์ทุกชนิดในร่างกายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม ยกเว้นเซลล์เม็ดเลือดแดง พบครั้งแรกในสารคัดหลั่งที่มาจากต่อมลูกหมาก (Prostate gland) พรอสตา-แกลนดินมีหน้าที่ทางสรีรวิทยาต่าง ๆ เช่น ควบคุมกิจกรรมของเนื้อเยื่อสืบพันธุ์เพศชาย กระตุ้นการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ควบคุมความดันโลหิต เหนี่ยวนำให้เกิดการแข็งตัวของเลือด

Hafiez (1974) ได้ทำการทดลองกับหนูแรทเพศผู้ที่ขาดกรดลิโนเลอิก เป็นระยะเวลานานแล้วกลับมาให้ กรดลิโนเลอิก พบว่าไม่สามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างละเอียด (Ultrastructural) ของเอ็นโดพลาสมิกเรตดูรีม (endoplasmic reticulum) ของเซลล์เซอร์โตไล (Sortoli cell) ในอัณฑะของหนูให้กลับมาเหมือนเดิมได้ แต่เมื่อให้ PGE_2 โดยการฉีดก็ไม่สามารถทำให้โครงสร้างเหล่านี้กลับเป็นปกติได้ แต่พบว่ามีการซ่อมแซมบ้างทำให้หนูแรทเพศผู้กลับมาเจริญพันธุ์ได้

การศึกษาเกี่ยวกับกรดไขมันที่จำเป็น ต่อการเพาะเลี้ยงเซลล์ทั่วไป และเซลล์เอ็มบริโอ มีการวิจัยบ้างแต่ไม่มากนักดังนี้

Gerschenson และคณะ (1967) ศึกษาผลของกรดลิโนเลอิกและอะราคิโดนิก ต่ออัตราการเจริญของ Hela เซลล์โดยเลี้ยงในน้ำยาเพาะ

เลี้ยงที่มีกรดลิโนเลอิก และ อะราคิโดนิก โดยทำการทดลองแยกกัน พบว่ากรดไขมันทั้ง 2 ชนิดมีผลต่อเซลล์คล้าย ๆ กัน คือมีผลต่อการทำงานของ ไมโทคอนเดรีย โดยมีผลต่อ ดีโตกลูตาเรต, มาเลต, กลูตาเมต และ ไพรูเวต ไม่สามารถเข้าไปในปฏิกริยา Phosphorylation ทำให้เกิดการสูญเสียการควบคุมการหายใจระดับเซลล์ทำให้ไมโทคอนเดรียบวม และยังพบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไลโปโปรตีน (lipoprotein) ของเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรียด้วย แต่ถ้ามีกรดลิโนเลอิก และอะราคิโดนิกจะสามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ได้ จึงกล่าวได้ว่ากรดไขมันทั้ง 2 จะทำหน้าที่ในการรักษาความมั่งคงทางสรีรวิทยาของโครงสร้างไมโทคอนเดรียทำให้การเจริญของเซลล์เป็นปกติ

Holley, และ คณะ (1967) ศึกษาผลของกรดไขมันต่อการเจริญของเซลล์มะเร็งของหนูเมาซ์ พบว่า กรดลิโนเลอิก อะราคิโดนิก และโอลิอิก จะกระตุ้นการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ดีกว่ากรดไขมันชนิดอื่น ๆ โดยได้ทดลองเลี้ยงเซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ใช้ชีรัมที่สกัดเอากรดไขมันออก พบว่ากระบวนการในการแบ่งเซลล์ที่ระยะ G_1 หรือ G_0 ในวงจรการแบ่งเซลล์ (cell cycle) จะยืดยาวคล้ายกับการจำศีล แต่ถ้ามีกรดลิโนเลอิก อะราคิโดนิกและโอเลอิก ตัวใดตัวหนึ่งในน้ำยาเพาะเลี้ยง จะชักนำให้เซลล์เริ่มต้นการสังเคราะห์ DNA อีกครั้งหนึ่ง ทำให้มีเซลล์อยู่ในระยะต่อมาคือระยะ S เพิ่มมากขึ้น จึงกล่าวได้ว่ากรดไขมันเหล่านี้อาจมีผลโดยตรงต่อกลไกบางอย่างที่เป็นประโยชน์ต่อการแบ่งเซลล์หรือมีอิทธิพลทางอ้อมต่อเยื่อหุ้มเซลล์ และการสังเคราะห์สารบางตัวที่เป็นสารที่ควบคุมการเจริญของเซลล์

Cholewa และ Whitten (1970) พบว่าเอ็มบริโอของหนูเมาซ์สามารถเจริญในหลอดทดลองจากระยะ 2-เซลล์ถึงบลาสโตซิส โดยที่ไม่มีอัลบูมินปรากฏอยู่ในน้ำยาเพาะเลี้ยงอย่างไรก็ตาม ส่วนใหญ่แล้วมีการเจริญไปถึงบลาส-โตซีสน้อยมากหรืออาจล้มเหลวในการหลุดออกจากโซนาเพลลูซิดา เขาได้อ้างว่าอัลบูมินนั้นอาจจะมีกรดไขมันที่สำคัญ ซึ่งเป็นสิ่งที่มีความจำเป็นต่อการหลุดออกจากโซนาเพลลูซิดาของเอ็มบริโอในการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง

Spector (1972) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมในหลอดทดลอง พบว่า กรดไขมันที่อยู่ภายนอกสามารถแข่งขันกับสาร

ที่เป็นแหล่งพลังงานตัวอื่น ๆ ในกระบวนการออกซิเดตีป แมแทบอลิซึม (oxidative metabolism) และยังพบว่าเมื่อมีกรดไขมันอยู่ในน้ำยาเพาะเลี้ยง จะทำให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์กรดไขมันภายในเซลล์

Williams, และคณะ (1974) ศึกษาการใช้กรดไขมันอิสระในการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์ ได้กล่าวถึงการทดลองของ Geyer (1967) ซึ่งวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันจาก L เซลล์ที่เจริญในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ไม่มีซีรัมแต่มีกรดไขมันอิสระพบว่า ถ้าในน้ำยาเพาะเลี้ยงมีกรดโอเลอิก (Oleic acid) จะทำให้มีการนำเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ในรูปโอเลเอต เพิ่มมากขึ้นเป็นผลให้อัตรา ส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเพิ่มสูงขึ้นในเยื่อหุ้มเซลล์ ชี้ให้เห็นว่ากรดไขมันอิสระในน้ำยาเพาะเลี้ยงสามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์นอกจากนั้นยังพบว่าถ้าใช้กรดไขมันอิ่มตัวแทนกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะทำให้เซลล์ถูกทำลายและตาย

Nadijcka และ Hillman (1975) ใช้กรดไขมันที่ติดฉลากด้วยสารกัมมันตภาพรังสี เติมลงในน้ำยาเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ในระยะก่อนการฝังตัวในหลอดทดลองพบว่า เอ็มบริโอสามารถนำกรดไขมันที่ติดฉลากเข้าไปในเซลล์ได้ แต่ไม่ได้วิเคราะห์แยกให้เห็นว่าเข้าไปรวมอยู่กับสารชนิดใดมากน้อยเพียงใด

Messmer และ Young (1976) พบว่ากรดไขมันอิ่มตัวในทุก ๆ ความเข้มข้น จะไม่สนับสนุนการเจริญของเซลล์ ในขณะที่กรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมดจะมีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของเซลล์ โดยเรียงตามลำดับความสามารถดังนี้ซีส-ไอโซเมอร์ (cis-isomer), โมโน(Mono), กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่ง (Polyunsaturated) และทรานส์-ไอโซเมอร์ (trans-isomer) เขาพบว่ากรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวอาจถูกใช้เป็นองค์ประกอบพื้นฐานของเซลล์มากกว่าเป็นแหล่งพลังงานโดยตรง โดยพบว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวแบบซีส (cis-unsaturated fatty acid) อาจเป็นสิ่งจำเป็นที่ใช้ในการรักษาสภาพของเหลวในเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อให้การขนส่งสารที่จำเป็นผ่านเข้าไปได้ตามปกติ

Doi และคณะ (1978) ได้ศึกษากรดไขมันที่มีอยู่ในน้ำยาเพาะเลี้ยงต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของ ฟอสโฟลิพิด ของเยื่อหุ้ม

เซลล์ของ LM เซลล์ของหนูเมาซ์พบว่า ฟอสโฟลิพิด จะมีเปอร์เซนต์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวประมาณ 63% และกรดไขมันอิ่มตัวอีก 37% จากการทดสอบพบว่า ถ้ามีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวในน้ำยาเพาะเลี้ยงสูงจนทำให้มีการเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวในฟอสโฟลิพิด ของเยื่อหุ้มเซลล์จาก 65% เป็น 80% จะไม่มีผลต่ออัตราการเจริญของเซลล์แต่ถ้าลดกรดไขมันไม่อิ่มตัวลงในช่วง 48-55% โดยเติมกรดไขมันอิ่มตัวในน้ำยาเพาะเลี้ยงอัตราการเจริญจะลดลง

Tsai และ Geyer (1978) พบว่า กรดลิโนเลอิก และกรดโอเลอิก ที่มีอยู่ในน้ำยาเพาะเลี้ยงปริมาณสูง ๆ ทำให้ฟอสโฟลิพิดในเซลล์เปลี่ยนเป็นไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) โดยสัมพันธ์กับการลดลงของกรดไขมันทั้งสองแต่เมื่อนำกรดไขมันออกจากน้ำยาและเลี้ยงพบว่า ไตรกลีเซอไรด์จะเปลี่ยนกลับมาเป็น ฟอสโฟลิพิด ลักษณะเช่นนี้อาจเป็นวิธีของเซลล์ในการป้องกันอันตรายจากกรดไขมันที่มีปริมาณสูง ๆ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง

Flynn และ Hillman (1978) ได้แสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการติดฉลากน้ำตาลกลูโคสด้วย [U-^{14}C] ในน้ำยาเพาะเลี้ยง พบว่ามีสารกัมมันตภาพรังสีเข้าไปอยู่เป็นองค์ประกอบของ ไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งเป็นไขมันในรูปพลังงานสะสม เป็นไปได้ว่าเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ ในระยะก่อนการฝังตัวในช่วงต้น 2-8 เซลล์ มีการสังเคราะห์และสะสมไตรกลีเซอไรด์ (triacylglyarols) เพื่อเตรียมไว้สำหรับการเจริญในช่วงวิกฤตที่มีความต้องการพลังงานสูง เช่น ที่ระยะมอรูลาถึงบลาสโตซีสและขณะที่เอ็มบริโอหลุดออกจากโซนาเพลลูซิดา

Kane (1979) ได้ทำการศึกษาผลของกรดไขมันต่อการเจริญของเอ็มบริโอกระต่ายจากระยะ 1-เซลล์ ถึง มอรูลา พบว่ากรดไขมันที่มีคาร์บอนหลายตัว (long chain fatty acid) ได้แก่ กรดสเตรียริก (C 18:0) ไมรีสติก (Myristic) (C 14:0) ปาลมิติก (Palmitic) (C 16:0) โอเลอิก (oleic) (C18 : 1) และลิโนเลอิก (linoleic) (C18:2) สามารถสนับสนุนการเจริญของเอ็มบริโอกระต่ายได้ดีกว่ากรดไขมันสายสั้น ยกเว้นกรดอะราคิโดนิก (C20 : 4) ซึ่งเป็นกรดไขมันสายยาวแต่ไม่มีผลต่อการเจริญของเอ็มบริโอ อะราคิโดนิก อาจเปลี่ยนรูปเป็นเพอออกไซด์ที่เป็นพิษ (toxic peroxides) หรืออาจเกิดจากที่เอ็มบริโอไม่สามารถนำกรดอะราคิโดนิก ไป

ใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมได้เนื่องจากโครงสร้างของกรดอะราคิโดนิก มีพันธะคู่ถึง 4 ตำแหน่ง

Flynn และ Hillman (1980) เขาพบว่าเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ที่ระยะก่อนการฝังตัวสามารถนำกรดไขมันที่อยู่ในน้ำยาเพาะเลี้ยงเข้าไปใช้ประโยชน์และนำเข้าไปรวมเป็นองค์ประกอบของไขมัน ในการทดลองได้ติดฉลากสารกัมมันตภาพรังสีกรดปาลมิติก (palmitic acid) พบว่า CO_2 เพิ่มขึ้นในไมโทคอนเดรียจากกระบวนการออกซิเดชั่น (β-oxidation ที่ระยะ 8-เซลล์ถึงมอรูลา สิ่งนี้ชี้ให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการออกซิเดชั่น (oxidative Function) ในไมโทคอนเดรีย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Mills และ Brinster (1967) ที่กล่าวถึงการที่ O_2 ถูกนำไปใช้ในเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ในระยะ 1-8-เซลล์ มีลักษณะที่คงที่จนถึงระยะ 8-เซลล์ แต่ที่ระยะมอรูลามีการเพิ่มการใช้ O_2 อย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากกระบวนการออกซิเดชั่นของกรดไขมันต้องใช้ O_2

การนำกรดไขมันจากภายนอกเข้าไป รวมเป็นไขมันในเอ็มบริโอได้มีการทดสอบโดยการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ที่ระยะ 8-เซลล์ เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มี 0.1 mM [9,10-^{3}H] กรดปาลมิติก (Palmitic acid) หลังจากนั้นนำเอ็มบริโอมาแยกองค์ประกอบของไขมัน โดยวิธี thin-layer chromatography ตรวจพบว่ากรดไขมันที่ติดฉลากด้วยสารกัมมันตรังสี 93% พบอยู่ใน neutral glycerides โมโน-ได และ ไตรกลีเซอไรด์ประมาณ 2% อยู่ในไขมันเป็นกลาง (neutral lipid) ชนิดอื่น ๆ

Rosenthal (1979) ศึกษาผลของกรดโอเลอิกและกรดลิโน-เลอิก ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสของผิวหนังคน (Human skin Fibroblasts) โดยวิธีติดฉลากด้วยสารกัมมันตภาพรังสี [1-^{14}c] ลิโนลิเอต (linoleate) หรือ (1-^{14}C) โอลิเอต (oleate) โดยพบว่าโอลิเอต (linoleate) จะเข้าไปรวมเป็นไตรกลีเซอไรด์ ในเซลล์ขณะที่ลิโนลิเอตจะเข้าไปรวมเป็นฟอสโฟลิพิดในส่วนที่เป็นไขมัน (polar lipids) 75%

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การย้ายฝากเอ็มบริโอของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม

การย้ายฝากตัวอ่อนครั้งแรกทำในกระต่าย เมื่อปี ค.ศ.1890 โดย Heape ที่มหาวิทยาลัยแคมบริดจ์ ประเทศอังกฤษ มีการปรับปรุงวิธีการเก็บเอ็มบริโอในสัตว์ทดลองในปี ค.ศ.1930 ส่วนในปศุสัตว์เริ่มทำสำเร็จในแพะและแกะในปี ค.ศ.1932 ในสุกรและโคทำสำเร็จครั้งแรกใน ค.ศ.1951 ในประเทศรัสเซีย และสหรัฐอเมริกา สำหรับสัตว์ชนิดอื่น ๆ รวมทั้งคนได้แสดงให้เห็นโดยตารางที่ 3

ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการย้ายฝากมีหลายอย่าง เช่น ความสอดคล้อง (Synchronization) ระหว่างอายุของเอ็มบริโอกับอายุของการตั้งท้องของตัวรับที่ตั้งท้องเทียม (Pseudopreagnant recipient) Whittingham (1979) รายงานว่าอายุของเอ็มบริโอที่นำมาถ่ายฝากอาจเหลื่อมกับอายุการตั้งท้องได้ 1 วัน แต่โดยทั่วไปการย้ายฝากจะประสบผลสำเร็จมากที่สุดเมื่อมีการย้ายฝากเอ็มบริโอเข้าในสัตว์ตัวรับที่มีอายุการตั้งท้องเทียมสอดคล้องกับอายุของเอ็มบริโอ (Chang, 1950;Sato และ Yanagimach; 1972)

ตำแหน่งของการย้ายฝาก เป็นปัจจัยอีกอย่างหนึ่งที่มีผลต่อความสำเร็จในการย้ายฝากเอ็มบริโอ เอ็มบริโอระยะแรก ๆ ของการแบ่งตัว (1-8 เซลล์) มักจะพบที่ท่อนำไข่เมื่อมีการย้ายฝากไปยังตัวรับ ก็ควรย้ายฝากไปที่ท่อนำไข่ เช่นเดียวกัน เนื่องจากเอ็มบริโอของสัตว์แต่ละชนิดอาจตอบสนองต่อสารคัดหลั่งจากท่อนำไข่หรือมดลูกแตกต่างกันในหนูเมาซ์เอ็มบริโอระยะ 1-2 เซลล์จะเสื่อมสลายภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากย้ายฝากเข้าสู่มดลูก ถึงแม้จะมีอายุการตั้งท้องที่สอดคล้องระหว่างตัวให้กับตัวรับก็ตาม (Noyes et al, 1963)

อายุของสัตว์ตัวให้กับตัวรับ ก็อาจเป็นอีกปัจจัยหนึ่ง Gosden (1974) รายงานว่าถ้าอายุของสัตว์ตัวให้และตัวรับอยู่ระหว่าง 2-4 เดือน จะทำให้เปอร์เซนต์ความอยู่รอดของเอ็มบริโอมีมากกว่าในกรณีที่ตัวให้และตัวรับที่มีอายุมากกว่า 4 เดือน

การผ่าตัด ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อความสำเร็จในการย้ายฝาก (Moler et al, 1979) รายงานว่าการย้ายฝากหนูเมาซ์ โดยไม่ผ่าตัด

(non-surgical transfer) ประสบความสำเร็จสูงถึง 60% ซึ่งสูงกว่าการย้ายฝากโดยการผ่าตัด นอกจากนั้นยังไม่ทำให้เกิดบาดแผล (trauma) กับตัวรับอีกด้วย วิธีการคือใช้ Modified capillary tube ย้ายฝากผ่านปากมดลูกเข้าสู่ตัวมดลูกโดยไม่ต้องผ่าตัด

นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อความอยู่รอดของเอ็มบริโอภายหลังการย้ายฝาก ได้แก่ สภาพความเป็นกรดด่างของน้ำยาที่ใช้ในการย้ายฝาก (Whittingham และ Bavister, 1974) ระยะเวลาที่เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอภายนอกร่างกาย (Yodyinguad, 1982) ตลอดจนความชำนาญของผู้ทำการย้ายฝากก็มีส่วนสำคัญ

ตารางที่ 1.1 แสดงการย้ายฝากตัวอ่อนที่ประสบความสำเร็จเป็นครั้งแรกในสัตว์ชนิดต่าง ๆ

ค.ศ.	ชนิด	ผู้วิจัย
1890	กระต่าย	Heape
1933	หนูขาว	Nicholas
1934	แกะ	Warwick, Berry และ Hovlacher
1942	หนูถีบจักร	Fekete และ Little
1949	แพะ	Warwick และ Berry
1951	โค	Willett, Black,Casida,Stone และ Buckner
1951	สุกร	Kvasnickii
1968	เฟอเรท	Chang
1972	แฮมสเตอร์	Sato และ Yanagimachi
1974	ม้า	Oguri และ Tsatsumi

ตารางที่ 1.1 (ต่อ)

ค.ศ.	ชนิด	ผู้วิจัย
1976	ลิงบาบู	Kaemer, Moore และ kramen
1978	มนุษย์	Steptoe และ Edwards
1978	แมว	Schriver และ Kracmer
1979	สุนัข	kinney, Pcnnycook, Schriver, Templeton และ Kraemer
1983	กระบือ	Drost และคณะ

วิทยา ยศยิ่งยวด (2530)

วัตถุประสงค์ของการทดลอง

ในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในหลอดทดลอง มักเติมสารอัลบูมินที่สกัดได้จากเลือด ซึ่งมักมีกรดไขมันติดอยู่ด้วย แต่การศึกษาผลของกรดไขมันต่อการเจริญของเอ็มบริโอหนูเมาซ์ยังมีการศึกษากันน้อยมาก จึงเป็นที่น่าสนใจศึกษาว่ากรดไขมันจะมีส่วนในการสนับสนุนการเจริญเอ็มบริโอของหนูเมาซ์หรือไม่ ในสภาพปกติอัลบูมินจะมีโอลิอิก (oleic) เกาะอยู่สูงกว่ากรดไขมันตัวอื่น และในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมไม่สามารถสังเคราะห์กรดลิโนเลอิก (linoleic) และกรดอะราคิโดนิก (arachidonic acid) จึงเป็นกรดไขมันที่จำเป็น ดังนั้นงานทดลองครั้งนี้จึงใช้กรดไขมันทั้ง 3 ชนิด ในน้ำยาเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหนูเมาซ์ โดยจะศึกษาผลของกรดไขมันต่อการเจริญของเอ็มบริโอระยะก่อนการฝังตัวในหลอดทดลองความสามารถในการฝังตัวและอยู่รอดหลังการฝังตัว ตลอดจนความสมบูรณ์พันธุ์ของลูกที่ได้จากการถ่ายฝากเอ็มบริโอเหล่านั้นเข้าสู่ตัวรับที่เหมาะสม ดังนี้

1. ศึกษาผลของกรดไขมันลิโนเลอิก (Linoleic), กรดอะราคิโดนิก (Arachidonic) และ โอเลอิก (Oleic) ต่อการเจริญของเอ็มบริโอระยะก่อนการฝังตัวในหลอดทดลอง

2. ศึกษาผลของกรดไขมันลิโนเลอิก (Linoleic), กรดอะราคิโดนิก (Arachionic) และ โอเลอิก (Oleic) ต่อการออกจากโซนาเพลูซิดา (Hatch) ของเอ็มบริโอในหลอดทดลอง

3. เพื่อศึกษาผลต่อเนื่องของกรดไขมันทั้ง 3 ชนิด ต่อการฝังตัวและอยู่รอดของเอ็มบริโอเมื่อถ่ายฝากไปยังตัวรับ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ช่วยให้ทราบถึงความสำคัญของกรดไขมันทั้งสามชนิดที่ทดลองต่อการเจริญของเมาซ์เอ็มบริโอในระยะก่อนการฝังตัว

2. ช่วยให้ทราบถึงความสำคัญ ของกรดไขมันทั้งสามชนิดที่ทดลองต่อการฝังตัวและความอยู่รอดของเอ็มบริโอหลังการถ่ายฝาก

3. เป็นแนวทางในการปรับปรุงสูตรน้ำยาเพาะเลี้ยงในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของสัตว์ต่าง ๆ ในหลอดทดลองให้มีประสิทธิภาพสูงสุด