

ผลของการใช้โปรตีนจากหนอนไหม (Sericin) ในการรักษาตัวอ่อนโคแบบแช่แข็ง

อัญชลี ศรีเสน

ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บทคัดย่อ

สัมนานี้ได้ทำการศึกษาเอกสารงานวิจัยจำนวน 4 ฉบับ เพื่อให้ทราบถึงผลของการเสริม Sericin ต่อการรักษาตัวอ่อนโคแบบแช่แข็ง พบว่า การเสริม Sericin ที่ระดับ 0.5% มีผลทำให้ตัวอ่อนมีการพัฒนาในระยะ Blastocyst ทั้งหมด ระยะ Expanded Blastocyst มีการพัฒนาเพิ่มมากขึ้น แต่ในระยะ Blastocyst และระยะ Four-cell stage ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในการเสริม Sericin 0.5% น้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนแบบแช่แข็งช่วยป้องกันตัวอ่อนภายใต้สภาวะที่มี H_2O_2 ระดับ 50 และ 100 μM และทำให้อัตราการรอดของตัวอ่อน Blastocyst ทั้งหมด และตัวอ่อนระยะ Expanded Blastocyst ที่กำลังพัฒนาสูงกว่าการไม่เสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อน และการเสริม Sericin ที่ระดับความเข้มข้นของ Sericin 0.5% ร่วมกับ Fetal Bovine Serum 20% ทำให้แม่โคตัวที่ได้รับมีอัตราการตั้งท้องและการคลอดปกติเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ไม่ทำให้อัตราการแท้ง และอัตราการตายแรกคลอดของลูกโคแตกต่างกันทางสถิติ

คำสำคัญ : ตัวอ่อน โคแช่แข็ง, Sericin, การพัฒนาของตัวอ่อน, อัตราการตั้งท้อง

บทนำ

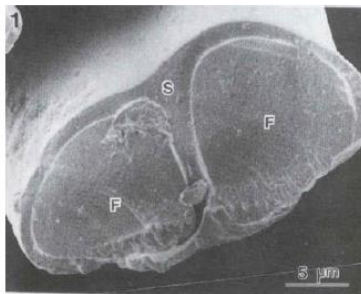
ในปัจจุบันเทคโนโลยีชีวภาพได้เข้ามามีบทบาทสำคัญในการผลิตและปรับปรุงพันธุ์สัตว์ เช่น การย้ายฝากตัวอ่อน (Embryo Transfer; ET) ได้ถูกนำไปใช้เป็นเทคโนโลยีผลิตในเชิงพาณิชย์มากขึ้น เช่น การแช่เย็นและการแช่แข็งตัวอ่อนเป็นเทคโนโลยีที่ช่วยเอื้อประโยชน์ในการเก็บรักษาพันธุ์กรรมที่ดีของสัตว์และเป็นประโยชน์ในการแพร่กระจายสัตว์สายพันธุ์ที่ได้โดยง่ายในรูปแบบตัวอ่อนแช่แข็ง การแช่แข็งตัวอ่อนมี 2 วิธี คือ 1) การแช่แข็งแบบลดอุณหภูมิลงช้าๆ หรือ Conventional slow freezing และ 2) การแช่แข็งแบบลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็วแบบ Vitrification การแช่แข็งตัวอ่อนแบบ Conventional หลักการของการแช่แข็งแบบนี้คือ การควบคุมอัตราความเร็วของการแช่แข็ง (Cooling rate) อย่างช้าๆ โดยไม่เกิน 1°C ต่อนาที และตัวอ่อนต้องอยู่ในสารละลายที่มีสารป้องกันการแช่แข็งชนิดซึมผ่านเซลล์ได้ (Permeable Cryoprotectants) ในการเก็บรักษาตัวอ่อนโคในระยะ Morula และ Blastocyst จะทนทานต่ออุณหภูมิ 0°C (Trousseau et al, 1976) ในการแช่แข็งตัวอ่อนมีหลักการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และนำกลับไปย้ายฝากให้เจริญในมดลูกของแม่โคตัวอื่นทำให้ได้โคพันธุ์กรรมดีเพิ่มจำนวนขึ้นได้มาก สามารถทำการแช่แข็งตัวอ่อนเพื่อเก็บไว้ใช้ต่อไปได้

Sericin หรือโปรตีนไหม เป็น Silk fiber ชนิดหนึ่ง โดย Sericin จะมีลักษณะเป็น Amorphous matrix ทำหน้าที่เป็นกาวเชื่อม Fibroin filaments ไว้ด้วยกัน Sericin จะมีสารสำคัญบางชนิดที่ช่วยป้องกันชั้นโครงสร้างของเซลล์ผิวหนัง ช่วยลดการเจริญเติบโตของไวรัส และมีสารต้านไวรัส โดย Sericin มีส่วนประกอบของกรดอะมิโนมากถึง 18 ชนิด (Wei et al., 2005) และ Kato et al. (1998) รายงานว่า Sericin มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และมีการรายงานถึงความสำเร็จในการนำ Sericin ไปใช้ในเทคโนโลยีเลี้ยงตัวอ่อน โดย Isobe et al. (2012) พบว่า การเสริมโปรตีนไหมในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนโคในห้องปฏิบัติการ สามารถปรับปรุงคุณภาพของตัวอ่อนในระยะช่วงแรกของการพัฒนา โดยมีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิด Oxidative stress ของเซลล์ Sericin ยังมีความสามารถดูดน้ำ พองตัว และละลายในน้ำร้อนได้ ตลอดจนสามารถยึดติดกับผิวหนังได้ดี ซึมซาบเข้าไปในผิวหนัง ช่วยรักษาความชุ่มชื้น และยึดติดกับผิวหนังได้คงทนกว่าคอลลาเจน นอกจากนี้ ในงานทดลองของ Isobe et al. (2013) พบว่า โปรตีนหนอนไหมสามารถนำมาใช้ทดแทนการใช้ Bovine serum albumin (BSA) ในการเก็บรักษาตัวอ่อนโค ซึ่งแสดง ถึงโปรตีนไหมสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการทำหน้าที่แทนซีรัมของสัตว์และการเก็บรักษาเซลล์และเนื้อเยื่อได้

ดังนั้น สัมมนาฉบับนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง เพื่อให้ทราบถึงผลของการใช้โปรตีนจากหนอนไหม (Sericin) ที่มีต่อคุณภาพของตัวอ่อนโคที่เก็บรักษาแบบแช่แข็ง

องค์ประกอบและคุณสมบัติของ Sericin

Sericin เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) มีส่วนประกอบของ Hydroxyl amino acid สูง สกัดจากธรรมชาติ สาร Sericin ที่เป็นส่วนของกาวไหม จะพ่นออกมาเคลือบอยู่ รอบๆ เส้นไหม (Fibroin) แสดงดังภาพที่ 1 เพื่อทำหน้าที่เป็นสารหล่อลื่น มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากสามารถยับยั้งการเกิด hydroxyl radical, superoxide radical, และ Oxidative stress และยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียและยังทำหน้าที่เป็นสารป้องกันความเสียหายจากการแช่แข็งของตัวอสุจิจึงนำ Sericin มาเสริมลงในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อจะสามารถป้องกันการเกิดความเสียหายแก่เซลล์อสุจิจากกระบวนการเกิด lipid peroxidation นอกจากนี้ยังสามารถปรับปรุงคุณภาพน้ำเชื้อ ภายหลังการเก็บรักษาแบบแช่เย็นและแช่แข็งหลังการละลาย ช่วยเพิ่มอัตราการเคลื่อนที่ การมีชีวิตของอสุจิ ความสมบูรณ์ของอสุจิ เป็นต้น (อดิชาติ ทองนาและคณะ, 2560)



ภาพที่ 1. ภาพตัดขวางของเส้นไหม S กาวไหม (Sericin) F เส้นไหม (ไฟโบรอิน Fibroin)

ที่มา: เกียรติชัย ดวงศรี (2553)

ผลของการเสริมโปรตีนหนอนไหม (Sericin) ในการรักษาตัวอ่อนโคแบบแช่แข็ง ต่อความเสียหายของ Zona pellucida อัตราการรอดชีวิต และร้อยละของตัวอ่อนระยะ Hatched blastocyst

จากการศึกษาของ Isobe et al. (2013) ในตารางที่ 1 พบว่า การเสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนที่ระดับ 0, 0.5 และ 1.0% ไม่ส่งผลให้อัตราความเสียหายของ Zona pellucida เปลี่ยนแปลง แต่ก็มีร้อยละของตัวอ่อนที่ดีขึ้นอย่างเห็นได้ชัดจนที่การเสริม Sericin ระดับ 0.1% ในอัตราการรอดชีวิต 84.8% ในการพัฒนาของตัวอ่อนระยะ Hatched blastocyst 69.4% เช่นกัน ในทางตรงกันข้ามไม่มีความแตกต่างกันของร้อยละตัวอ่อนในการพัฒนาระยะต่างๆ

ตารางที่ 1 ผลของความเข้มข้น Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนสำหรับการแช่แข็งต่อความอยู่รอดและการพัฒนาของตัวอ่อนโคหลังการทำละลาย (Thawing)

ความเข้มข้นของ Sericin (%)*	ร้อยละของตัวอ่อน (%)		
	มีความเสียหายของ Zona pellucida	อัตราการรอดชีวิต**	ตัวอ่อนระยะ Hatched blastocyst***
ควบคุม (0)	13.5	81.8	68.2
0.1	12.7	84.8	71.6
0.5	11.1	82.3	69.4
1.0	5.7	81.8	66.8

หมายเหตุ ทำการทดลองซ้ำ เปรูเซ็นต์จะถูกนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM

* ตัวอ่อนที่ทำ IVF มีการใช้อาหารแช่แข็งที่เสริมด้วย sericin ที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยตัวอ่อนในกลุ่มควบคุมจะถูกแช่แข็งในอาหารที่เสริมด้วย Bovine serum album 0.4% และ Fetal bovine serum 20%

** หลังจากทำการละลายตัวอ่อนจะถูกเลี้ยงในหลอดแก้วเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ประเมินอัตราการรอดชีวิตของตัวอ่อนจากการขยายตัวของบลาสโตโคไล

*** ร้อยละของบลาสโตซิสต์ที่ฟักแล้วถูกประเมินหลังจาก 72 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง

ที่มา : Isobe et al. (2013)

ผลของการเสริมโปรตีนหนอนไหม (Sericin) ในการรักษาตัวอ่อนโคแบบแช่แข็ง ต่อร้อยละของตัวอ่อนที่กำลังพัฒนา ในระยะ Blastocyst ทั้งหมด ระยะBlastocyst ระยะExpanded Blastocyst และ Four-cell stage

จากการศึกษาของ Isobe et al. (2012) ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่า การเสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนโคแบบแช่แข็งที่ระดับ 0.5% ทำให้มีร้อยละของตัวอ่อน Blastocyst โดยรวมเท่ากับ 59.9 ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริม Sericin 0.1 และ 1.0% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อพิจารณาถึง Expanded Blastocyst พบว่า การเสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนโคแบบแช่แข็งที่ระดับ 0.5% ทำให้มีร้อยละของ Expanded Blastocyst เท่ากับ 41.1 ซึ่งมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริม Sericin ระดับ 0.1 และ 1.0% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ผลการเสริม Sericin ระดับต่างๆ และการไม่เสริม Sericin ที่มีต่อร้อยละของตัวอ่อนในระยะ Blastocyst พบว่า ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 2 ผลของความเข้มข้น Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนสำหรับการพัฒนาและคุณภาพของตัวอ่อนโคที่เพาะเลี้ยงเป็นรายตัว

ความเข้มข้นของ Sericin (%)	ร้อยละของตัวอ่อนที่กำลังพัฒนา (%)		
	Blastocyst ทั้งหมด	Blastocyst	Expanded Blastocyst
ควบคุม	45.1 ^{a,c}	17.2	27.9 ^a
0.1	52.5 ^{a,b}	19.4	33.1 ^{a,b}
0.5	59.9 ^b	18.8	41.1 ^b
1.0	40.2 ^c	12.5	27.7 ^a

หมายเหตุ : a-c ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

ที่มา : Isobe et al. (2012)

จากผลการศึกษาของ Onitsuka et al. (2012) ในตารางที่ 2 อาจเป็นผลมาจากการที่ Sericin มีคุณสมบัติเป็นสารประกอบของโปรตีน ซึ่ง Sericin จะมีลักษณะเป็น Amorphous matrix ทำหน้าที่เป็นกาวเชื่อม Fibroin filaments ไว้ด้วยกัน Sericin จะมีสาระสำคัญบางชนิดที่ช่วยป้องกันโครงสร้างของเซลล์ผิวหนัง และช่วยลดการเจริญเติบโตของไวรัส ซึ่งมีสารต้านไวรัส sericin จะมีกรดอะมิโนมากถึง 18 ชนิด (Wei et al., 2005) เช่น อะลานีน (Alanine) ช่วยให้ผนังเซลล์แข็งแรง ซีรีน (Serine) ช่วยให้เนื้อเยื่อเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกัน ฮิสทีดีน (Histidine) ช่วยในการทำงานของระบบประสาทโปรตีน (Praline) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถป้องกันการแผ่รังสีของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ขณะเดียวกันยังช่วยลดความแก่ ชะลอความเสื่อมของเซลล์ ช่วยลดภาวะเป็นพิษ ซึ่งสอดคล้องกับ Kato et al. (1998) รายงานว่า Sericin มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และมีการรายงานถึงความสำเร็จในการนำ Sericin ไปใช้ในเทคโนโลยีเลี้ยงตัวอ่อน โดย Onitsuka et al. (2012) พบว่า การเสริมโปรตีนไหมในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนโคในห้องปฏิบัติการ สามารถปรับปรุงคุณภาพของตัวอ่อนในระยะช่วงแรกของการพัฒนา โดยมีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิด Oxidative stress ของเซลล์ Sericin ยังมีคุณสมบัติที่สามารถดูดน้ำ ฟองตัว และละลายในน้ำร้อนได้ ตลอดจนสามารถยึดติดกับผิวหนังได้ดี ซึมซาบเข้าไปในผิวหนัง ช่วยรักษาความชุ่มชื้น และยึดติดกับผิวหนังได้คงทนกว่าคอลลาเจน นอกจากนี้ ในงานทดลองของ Isobe et al. (2013) พบว่า โปรตีนจากหนอนไหมสามารถนำมาใช้ทดแทนการใช้ Bovine serum albumin (BSA) ในการเก็บรักษาตัวอ่อนโค ซึ่งแสดงถึงโปรตีนไหมสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการทำหน้าที่แทนซีรัมของสัตว์และการเก็บรักษาเซลล์และเนื้อเยื่อได้จึงทำให้อัตราการพัฒนาของตัวอ่อนในระยะต่างๆ เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 3 ผลของความเข้มข้น Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนสำหรับการพัฒนาและคุณภาพตัวอ่อนโคที่เพาะเลี้ยงเป็นรายตัว ต่อร้อยละของตัวอ่อนกลุ่มต่างๆ

Exposure to H ₂ O ₂ (μ M)	ความเข้มข้นของ Sericin (%)	ร้อยละของตัวอ่อนที่กำลังพัฒนา		
		Blastocyst ทั้งหมด	Blastocyst	Expanded Blastocyst
50	ควบคุม	22.8 ^a	9.9	12.9 ^{a,b}
	0.5	33.7 ^{a,b}	12.3	21.5 ^b
100	ควบคุม	23.7 ^c	14.8	8.9 ^a
	0.5	36.5 ^b	11.8	24.7 ^{b,c}

หมายเหตุ : a-c ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P < 0.05)

ที่มา : Onitsuka et al. (2012)

ตารางที่ 3 แสดงผลการศึกษาของ Isobe et al. (2013) พบว่าการเสริมในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนโคแบบแช่แข็งที่ระดับ 0.5% ซึ่งภายใต้สภาวะที่มีสาร H₂O₂(μ M) ในสภาวะ 50 μ M ทำให้มีร้อยละของตัวอ่อน Blastocyst โดยรวมเท่ากับ 33.7% ซึ่งสูงกว่ากลุ่มที่ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และเมื่อพิจารณาถึง Expanded Blastocyst พบว่าเสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนโคแบบแช่แข็งที่ระดับ 0.5% ทำให้มีร้อยละ Expanded Blastocyst เท่ากับ 21.5% ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และภายใต้สภาวะที่มีสาร H₂O₂(μ M) ในสภาวะ 100 μ M ทำให้มีร้อยละของตัวอ่อน Blastocyst โดยรวมเท่ากับ 36.5 ซึ่งสูงกว่ากลุ่มที่ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และเมื่อพิจารณาถึง Expanded Blastocyst พบว่าเสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนโคแบบแช่แข็งที่ระดับ 0.5% ทำให้มีร้อยละ Expanded Blastocyst เท่ากับ 24.7 ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่ผลการเสริม Sericin ในภายใต้สภาวะที่มีสาร H₂O₂(μ M) ในสภาวะ 50 μ M และ 100 μ M การเสริม Sericin ที่มีต่อร้อยละของตัวอ่อนในระยะ Blastocyst พบว่าไม่ทำให้เกิดความแตกต่างกันในทางสถิติ (P<0.05)

นอกจากนี้ ในการศึกษาของ Isobe et al. (2014) ดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่าสภาวะการเลี้ยงแบบกลุ่มการเสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนโคแบบแช่แข็งที่ระดับ 0.5% ทำให้มีร้อยละของตัวอ่อนระยะ Four-cell stage 85.4 ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุมและเมื่อพิจารณาถึง Blastocyst พบว่าเสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนโคแบบแช่แข็งที่ระดับ 0.5% ทำให้มีร้อยละของ Blastocyst เท่ากับ 60.9 ซึ่งสูงกว่ากลุ่มที่ควบคุม ในสภาวะการเลี้ยงแบบ

เดี่ยวการเสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนโคแบบแช่แข็งที่ระดับ 0.5% ทำให้มีร้อยละของตัวอ่อน Four-cell stage 88.4 ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุมและเมื่อพิจารณาถึง Blastocyst พบว่าเสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนโคแบบแช่แข็งที่ระดับ 0.5% ทำให้มีร้อยละของ Blastocyst เท่ากับ 47.9 ซึ่งสูงกว่ากลุ่มที่ควบคุม แต่การเสริม Sericin และไม่เสริม Sericin ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05\%$)

อาจมีผลเนื่องมาจากการเพาะเลี้ยงแบบเดี่ยวอาจจะได้รับอาหารเพียงพอต่อความต้องการของตัวอ่อนโคแบบแช่แข็งซึ่งในขณะเดียวกันการเพาะเลี้ยงแบบกลุ่มอาจได้รับอาหารไม่เพียงพอหรือแย่งอาหารกัน

ตารางที่ 4 ผลของความเข้มข้น sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนสำหรับการพัฒนาของตัวอ่อนที่ได้มาจากการเพาะเลี้ยงตัวอ่อน (ทีละตัว) หรือแบบกลุ่ม

สถานะของการเพาะเลี้ยงตัวอ่อน	ความเข้มข้นของ Sericin (%)	ร้อยละของตัวอ่อนที่กำลังพัฒนา	
		Four-cell stage	Blastocyst
แบบกลุ่ม	ควบคุม	79.5	54.9 ^a
	0.5	85.5	60.9 ^a
แบบเดี่ยว	ควบคุม	84.9	29.5 ^b
	0.5	88.4	47.9 ^{a,b}

หมายเหตุ : a,b ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

ที่มา : Isobe et al. (2014)

ผลของการเสริม Sericin ในการรักษาตัวอ่อนโคแบบแช่แข็ง ต่อร้อยละของแม่โค อัตราการแท้ง อัตราการตาย แรกคลอด และอัตราการคลอดปกติ

จากผลการศึกษาของ Isobe et al. (2013) ในตารางที่ 5 พบว่าผลของการเสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนโคแบบแช่แข็งการเสริม Sericin 0.5% ร่วมกับ Fetal Bovine Serum 20% ทำให้มีร้อยละของแม่โคเท่ากับ 47.3 ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมเพียง Sericin 0.5% และเมื่อพิจารณาถึงร้อยละการคลอดปกติพบว่าการเสริม Sericin 0.5% ร่วมกับ Fetal Bovine Serum 20% ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนแบบแช่แข็งมีร้อยละการคลอดปกติเท่ากับ 94.6 ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมเพียง Sericin 0.5% แต่การเสริม Sericin แต่การเสริม Sericin และไม่เสริม Sericin มีร้อยละการแท้งและร้อยละการตายแรกคลอดไม่ทำให้เกิดความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05\%$)

ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจาก Fetal bovine serum (FBS) เป็นอาหารเสริมการเจริญเติบโตที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ช่วยส่งเสริมปัจจัยการเจริญเติบโตของตัวอ่อน เมื่อใช้ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม จึงทำให้อัตราแท้งลดลง อัตราการตายแรกคลอดลดลง และอัตราการคลอดปกติเพิ่มมากขึ้น

ตารางที่ 5 ผลของการ เสริม sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนแช่แข็งต่ออัตราการตั้งท้อง การทำแท้ง การตายแรกคลอด และการคลอดปกติ หลังจากการถ่ายฝากตัวอ่อนโคแช่แข็ง

อาหารเลี้ยงเชื้อแช่แข็ง*	ร้อยละของแม่โคที่ตั้งท้อง**	ร้อยละของโค		
		การทำแท้ง	ตายแรกคลอด	คลอดปกติ
ควบคุม	40.1 ^a	8.8	3.4	87.3 ^a
0.5S+20F	47.3 ^b	4.6	0.8	94.6 ^b
0.5S	42.2 ^{ab}	3.8	3.0	92.4 ^{ab}

หมายเหตุ * ในตัวอ่อนที่ได้รับการแช่แข็งด้วยร่างกายแช่แข็งด้วย 0.4% BSA และ 20% FBS (ชุดควบคุม), 0.5% Sericin และ 20% FBS (0.5S + 20F) หรือ 0.5% Sericin (0.5S)

a, b ค่าที่มีตัวอักษรต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ที่มา : Isobe et al. (2013)

สอดคล้องการศึกษาของ Isobe et al. (2014) ดังตารางที่ 6 ซึ่งศึกษาพบว่าเสริม Sericin 0.5% และการไม่เสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนแบบแช่แข็ง ทั้งการเลี้ยงตัวอ่อนแบบกลุ่ม และแบบเลี้ยงแยกรายตัว ไม่ทำให้ร้อยละของแม่โคที่ตั้งท้องสูงแตกต่างกัน แต่เสริม Sericin 0.5% มีแนวโน้มทำให้ร้อยละของแม่โคที่คลอดปกติดีกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนแบบแช่แข็งที่เพาะเลี้ยงแบบกลุ่ม

ตารางที่ 6 ผลของความเข้มข้นของ Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนสำหรับอัตราของแม่โคในการตั้งท้อง การตายแรกคลอด และการคลอดปกติ หลังจากการถ่ายฝากตัวอ่อนโคแช่แข็ง

รูปแบบการเลี้ยงตัวอ่อน	ความเข้มข้นของ Sericin (%)	แม่โคที่ตั้งท้อง (%)	แม่โคที่คลอดปกติ (%)
แบบกลุ่ม	ควบคุม	25.9	85.7
	0.5	29.8	100
แบบเลี้ยงแยกรายตัว	ควบคุม	21.1	75.0
	0.5	20.0	83.3

ที่มา : Isobe et al. (2014)

สรุป

จากการศึกษาวิจัยผลของการเสริม Sericin ระดับต่างๆ ลงในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนโคแบบแช่แข็งจำนวน 4 ฉบับ พบว่า การเสริม Sericin ไม่มีผลทำให้ความเสียหายของ Zona pallucida ลดลง ไม่ทำให้อัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้นและร้อยละของตัวอ่อนระยะ Hatched blastocyst เท่าเดิม ซึ่งไม่มีผลแตกต่างกัน และสามารถสรุปได้ว่า

1. การเสริม Sericin ที่ระดับ 0.5% มีผลทำให้ตัวอ่อนมีการพัฒนาในระยะ Blastocyst ทั้งหมดระยะ Expanded Blastocyst มีการพัฒนาเพิ่มมากขึ้น แต่ในระยะ Blastocyst และระยะ Four-cell stage ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
2. การเสริม Sericin 0.5% น้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนแบบแช่แข็งช่วยป้องกันตัวอ่อนภายใต้สภาวะที่มี H_2O_2 ระดับ 50 และ 100 μM และทำให้อัตราการรอดของตัวอ่อน Blastocyst ทั้งหมด และตัวอ่อนระยะ Expanded Blastocyst ที่กำลังพัฒนาสูงกว่าการไม่เสริม Sericin ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อน
3. การเสริม Sericin ที่ระดับความเข้มข้นของ Sericin 0.5% ร่วมกับ Fetal Bovine Serum 20% ทำให้แม่โคตัวรับมีอัตราการตั้งท้องและการคลอดปกติเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ไม่ทำให้อัตราการแท้งและอัตราการตายแรกคลอดของลูกโคแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

- เกียรติชัย ดวงศรี. 2553. การใช้สารสกัดโปรตีนเซรีซินจากรังไหมเสีย. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. ปทุมธานี.
- อดิชาติ ทองนา, อนิวัตร ศรีมุงคุณ และเทวินทร์ วงษ์พระลับ. 2560. ผลของการเสริมโปรตีนไหมต่อคุณภาพของน้ำเชื้อแพะแบบแช่แข็ง. ว. แก่นเกษตร. 1: 96-100.
- Agarwal, A. and L.H. Sekhon. 2011. Oxidative stress and antioxidants for idiopathic oligoasthenoteratospermia: Is it justified. Indian J. Urol. 27: 74-85.
- Cao, T. and Zhang, Y. 2017. The potential of silk sericin protein as a serum substitute or an additive in cell culture and cryopreservation. Amino Acids. 49: 1029-1039.
- Isobe, T., Ikebata Y., Onitsuka T., Thi kim Do L., Sato Y., Taniguchi M. and Otoi T. 2013. Cryopreservation for bovine embryos in serum-free freezing medium containing silk protein sericin. Cryobiology. 67: 184-187.

- Isobe, T., Ikebata Y., Thi kim Do L., Tanihara F., Taniguchi M. and Otoi T. 2014. In vitro development of OPU-derived bovine embryos cultured either individually or in groups with the silk protein sericin and the viability of frozen-thawed embryos after transfer. **Animal science journal**. 10: 1-5.
- Kato, N., S. Sato, A. Yamanaka, H. Yamada, N. Fuwa, and M. Nomura. 1998. Silk protein sericin inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity. *Biosci. Biotechnol.* **Biochem.** 62: 145-147.
- Onitsuka T., Isobe, T., Ikebata Y., Wittayarat M., Sato Y., Taniguchi M. and Otoi T. 2012. Effect of sericin on preimplantation development of bovine embryos cultured individually. **Theriogenology**. 78: 184-187.
- Wei, T., M.Z. Li, and R.J. Xie. 2005. Preparation and structure of porous silk sericin materials. **Macromol. Mater. Eng.** 290: 188-194