

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์** ผลของโมนิโคลนอลแอนติบอดีต่อปฏิกิริยาไซโตทอกซิกเพื่อลดสัดส่วนสเปิร์มที่มีโครโมโซมวายในน้ำเชื้อพ่อโคพันธุ์ชาโลเลย์

**ผู้เขียน** นางสาวทฤษฎี คำหล่อ

**ปริญญา** วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สัตวศาสตร์

**คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์** รศ. เพทาย พงษ์เพ็ญจันทร์ ประธานกรรมการ  
ผศ. ดร. ศุภมิตร เมฆฉาย กรรมการ

### บทคัดย่อ

การเพิ่มจำนวนโคเนื้อเพศเมียเพื่อเป็นแม่พันธุ์ภายในฟาร์มเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มหน่วยการผลิตลูกโคเพื่อให้มีปริมาณเนื้อเพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศ การใช้น้ำเชื้อที่มีสัดส่วนสเปิร์มที่มีโครโมโซมวาย (Y – Chromosome Bearing Sperm) น้อยกว่าที่มีอยู่ในธรรมชาติเป็นแนวทางหนึ่งที่ทำให้ได้อัตราการเกิดลูกโคเพศเมียเพิ่มขึ้น การประยุกต์ใช้ปฏิกิริยาไซโตทอกซิก (Cytotoxicity) ในระบบภูมิคุ้มกันที่ใช้แอนติบอดีทำงานร่วมกับโปรตีนคอมพลีเมนต์จากซีรัมหนูตะเภาเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยทำลายสเปิร์มที่มีโครโมโซมวายได้ วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อลดสัดส่วนสเปิร์มที่มีโครโมโซมวายในน้ำเชื้อโคเนื้อด้วยปฏิกิริยาไซโตทอกซิกจากโมนิโคลนอลแอนติบอดีด้วยปฏิกิริยาไซโตทอกซิกที่เหมาะสมในการทำลายสเปิร์มที่มีโครโมโซมวาย โดยการแยกโคลนเดี่ยวจากโคลนหมายเลข 1F9-3B10 ที่มีการผลิตแอนติบอดีปริมาณมากที่สุด 1-2 mg/ml (O.D. 492 nm = 1.7) มาใช้ในปฏิกิริยาไซโตทอกซิก นำโมนิโคลนอลแอนติบอดีมาตรวจสอบความจำเพาะต่อเพศผู้ด้วยเซลล์เม็ดเลือดขาวของโคพันธุ์ชาโลเลย์ (Charolais) เพศผู้ (n = 8) และเพศเมีย (n = 8) พบว่ามีความจำเพาะต่อเพศผู้สูงถึง  $92.77 \pm 0.69$  % และ  $2.12 \pm 0.07$  % ( $P < 0.05$ ) ตามลำดับ เมื่อตรวจวัดผลด้วยเทคนิค Immunofluorescence microscopy พบว่าอัตรา

เจือจางคอมพลิเมนต์ที่ 1:50 ทำให้สเปิร์มมีชีวิตรอด 93.54 % และน้ำเชื้อโคที่ผ่านการคัดเพศด้วย  
ปฏิกิริยาไซโตทอกซิกจากโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่อัตราเจือจาง 1:2,500 ร่วมกับคอมพลิเมนต์  
1:50 เมื่อวัดสัดส่วนสเปิร์มที่มีโครโมโซมวายโดยวิธี Immunofluorescence microscopy พบว่ามี  
สัดส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองเป็น 63 : 37 และ 2 : 98 ตามลำดับ เมื่อ  
ยืนยันผลด้วยเทคนิค Real time PCR พบว่าจำนวนท่อนดีเอ็นเอ (DNA) ที่จำเพาะเจาะจงต่อเพศผู้  
ในกลุ่มคัดเพศ (1:2,500) ต้องการจำนวนรอบในการผลิตท่อน DNA มากกว่ากลุ่มควบคุม 4 รอบ  
(31 รอบ และ 27 รอบ) สรุปได้ว่าการใช้เทคนิคไซโตทอกซิกทำให้สเปิร์มที่จำเพาะต่อเพศผู้ลดลง  
เหลือ  $2.01 \pm 0.2 \%$

**Thesis Title** Effect of Monoclonal Antibody on Cytotoxic Reaction to Reduce  
Y – Chromosome bearing Sperm in Charolais Bull Semen

**Author** Miss Trisadee Khamlor

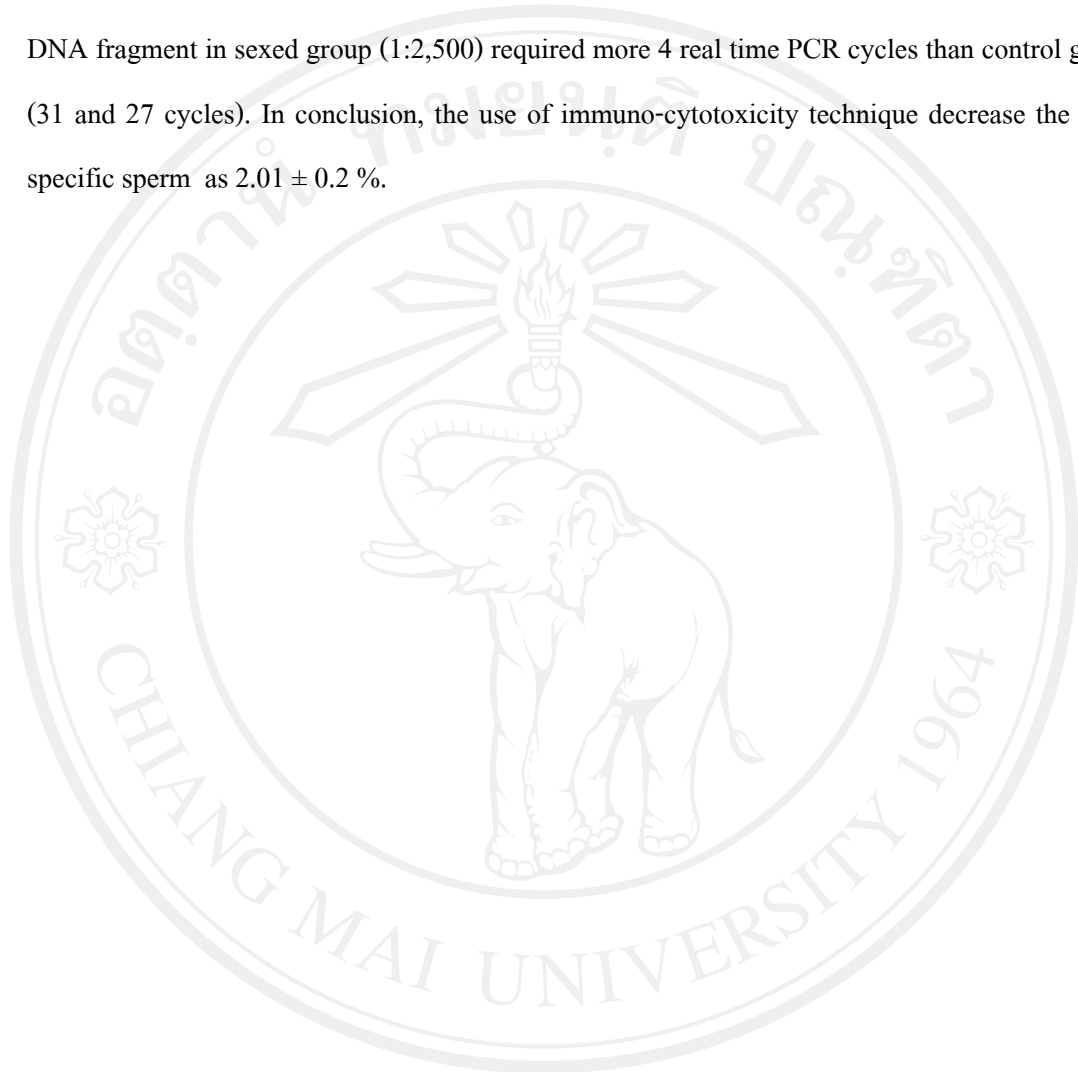
**Degree** Master of Science (Agriculture) Animal Science

**Thesis Advisory Committee** Assoc. Prof. Petai Pongpiachan Chairperson  
Asst. Prof. Supamit Mekchay Member

### Abstract

Increasing the number of female beef cattle used in breeding is a concept to increase beef production for adequate consumption in the nation. Sexed semen was used to increase the female beef cattle production. This method was applied from immuno-cytotoxicity technique, which can lysis Y-chromosome bearing sperm. The objectives of this research were to reduce Y-chromosome bearing sperm in beef cattle semen by immuno-cytotoxicity technique from monoclonal antibody and to find out the optimal cytotoxicity reaction in lysed Y-chromosome bearing sperm. The results showed that, after separating mono clone, the 1F9-3B10 clone was selected to use for cytotoxicity reaction because it produced the highest antibody for 1-2 mg/ ml (O.D. 492 nm = 1.7). Then, the specification to male with Charolais beef cattle lymphocytes (male, n=8 and female, n=8) was detected as  $92.77 \pm 0.69 \%$  and  $2.12 \pm 0.07 \%$  ( $p < 0.05$ ), respectively. When immunofluorescence microscopy was detected, the complement dilution at 1:50 gave the sperm survival rate at 93.54 % and the beef cattle semen from the sexing by cytotoxicity reaction of monoclonal antibody at 1:2,500 dilution with 1:50 complement changed

the sex ratios (male : female) of control and treatment groups were 63 : 37 and 2 : 98, respectively. The real time PCR was used for confirmation and found that the male specification DNA fragment in sexed group (1:2,500) required more 4 real time PCR cycles than control group (31 and 27 cycles). In conclusion, the use of immuno-cytotoxicity technique decrease the male specific sperm as  $2.01 \pm 0.2 \%$ .



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved