สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
สารบัญ	ซ
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญภาพ	ฐ
อักษรย่อและสัญลักษณ์	ฒ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.2 ประโยชน์ที่จะได้รับจากการศึกษา	3
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	
2.1 การเป็นสัด	4
2.2 ฮอร์โมนเอสโทรเจน (Estrogen, E_2)	8
2.3 ฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน (Progesterone, P_4)	11
2.4 การเหนี่ยวนำการเป็นสัด (Estrus synchronization)	13
2.5 ชานอ้อย (Sugarcane Bagasse)	22
2.6 เอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนท์แอสเซ (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; ELISA)	23
2.7 แอนติบอดี (Antibodies)	25
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	
3.1 อุปกรณ์การทดลอง	
3.1.1 สารเคมี	27
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ	28
3.1.3 สัตว์ทดลอง	28
3.2 แผนการดำเนินงาน	28
3.3 การวิเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน (Progesterone, P_4)	
3.3.1 การทำให้แอนติบอดีบริสุทธิ์	29

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
3.3.2 การหาอัตราเจือจางที่เหมาะสมของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน ($MAbP_4$) และ ฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนติดเอนไซม์ horseradish peroxidase (P_4-HRP) โดยวิธีเอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนท์แอสเซ (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; ELISA)	30
3.3.3 การหากราฟมาตรฐาน	30
3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาโดยวิธี competitive ELISA	30
3.4 การวิเคราะห์ฮอร์โมนเอสโทรเจน (Estrogen, E_2)	
3.4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมนเอสโทรเจนในพลาสมาโดยวิธี competitive ELISA	33
3.5 การทดลองที่ 1 ในห้องปฏิบัติการ *(In vitro)*	
3.5.1 การออกแบบและการประดิษฐ์อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด	35
3.5.2 คุณลักษณะของชานอ้อย	39
3.5.3 การบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด	40
3.5.4 การวัดปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในห้องปฏิบัติการ	41
3.6 การทดลองที่ 2 ในสัตว์ทดลอง *(In vivo)*	
3.6.1 แผนการทดลอง	42
3.6.2 วิธีการทดลอง	42
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
4.1 การวิเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน (Progesterone, P_4) และฮอร์โมนเอสโทรเจน (Estrogen, E_2)	
4.1.1 ปริมาณแอนติบอดีจากการทำโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรเจสเทอโรน ($MAbP_4$)ให้บริสุทธิ์	45
4.1.2 อัตราเจือจางที่เหมาะสมของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรเจสเทอโรน ($MAbP_4$) และโปรเจสเทอโรนติดเอ็นไซม์ horseradish peroxidase (P_4-HRP) สำหรับใช้ในวิธี competitive ELISA	45
4.1.3 การสร้างกราฟมาตรฐานของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน	46
4.1.4 ค่าปฏิกิริยา Cross reaction ของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรเจสเทอโรน	46

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
4.1.5 การหา Inter และ Intra coefficient assay (CV) ของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน	48
4.1.6 การสร้างกราฟมาตรฐานของฮอร์โมนเอสโทรเจน	48
4.1.7 ค่าปฏิกิริยา Cross reaction ของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเอสโทรเจน	49
4.1.8 การหา Inter และ Intra coefficient assay (CV) ของฮอร์โมนเอสโทรเจน	49
4.2 ผลการทดสอบแบบของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด	50
4.3 ลักษณะของชานอ้อยเมื่อบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน	51
4.4 ปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในห้องปฏิบัติการโดยวิธี competitive ELISA ที่เตรียมจากโมโนโคลนอล แอนติบอดี	52
4.5 ผลการคงอยู่ของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดเมื่อใช้จริงในสัตว์ทดลอง	55
4.6 ปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาแพะวัดโดยวิธี competitive ELISAที่เตรียมจากโมโนโคลนอลแอนติบอดี	56
4.7 ปริมาณการปล่อยฮอร์โมนเอสโทรเจนในพลาสมาแพะวัดโดยวิธี competitive ELISAที่เตรียมจากโมโนโคลนอลแอนติบอดี	59
4.8 การตอบสนองต่อการเป็นสัดเมื่อสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มควบคุม	62
4.9 ต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์แบบสอดช่องคลอดเพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัด	63
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง	64
สรุปและข้อเสนอแนะ	69
เอกสารอ้างอิง	70
ภาคผนวก ก	75
ภาคผนวก ข	81
ประวัติผู้เขียน	87

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2-1. แสดงลักษณะเฉพาะทางระบบสืบพันธุ์ของแพะ	5
2-2. การตอบสนองต่อการเป็นสัดและอัตราการผสมติดเมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย Melengestrol Acetate (MAP) ในอาหาร	15
2-3. การตอบสนองต่อการเป็นสัดและอัตราการผสมติดเมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย Norgestomet แบบฝังใต้ผิวหนังบริเวณใบหู	16
2-4. การตอบสนองต่อการเป็นสัดและอัตราการผสมติดเมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย Intravaginal Sponges แบบฟองน้ำสอดช่องคลอด	19
2-5. การตอบสนองต่อการเป็นสัดและอัตราการผสมติดเมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย Controlled internal drug release (CIDR) device แบบซิลิโคนสอดช่องคลอด	21
3-1. แสดงลักษณะทางกายภาพของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง	37
4-1. แสดงผลปฏิกิริยาการเกาะเกี่ยวของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน โคลนเบอร์ 4B2 กับฮอร์โมนสเตียรอยด์ชนิดต่าง ๆ	47
4-2. แสดงผลปฏิกิริยาการเกาะเกี่ยวของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนเอสโทรเจน โคลนเบอร์ 4B9 1E4 กับฮอร์โมนสเตียรอยด์ชนิดต่าง ๆ	49
4-3. สังเกตการคงอยู่และการหลุดของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบที่ 1, แบบที่ 2 และแบบที่ 3 หลังจากสอดในช่องคลอด 2 ครั้งๆ ละ 10 วัน	50
4-4. แสดงปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าที่มีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนเท่ากันคือ 300 มิลลิกรัมเมื่อแช่อุปกรณ์ทั้งสองในสารละลายน้ำเกลือเป็นเวลา 10 วัน	54
4-5. การคงอยู่ของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดเมื่อใช้เหนี่ยวนำการเป็นสัดจริงในสัตว์ทดลองเป็นเวลา 10 วัน	55
4-6. แสดงปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาแพะกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เหนี่ยวนำการเป็นสัด	58
4-7. แสดงปริมาณฮอร์โมนเอสโทรเจนในพลาสมาแพะกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เหนี่ยวนำการเป็นสัดนำการเป็นสัด	61

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4-8. การแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดหลังการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เหนี่ยว 62
4-9. รวมต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด 63

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2-1. ความสัมพันธ์ของระบบประสาทส่วนกลาง ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า และฮอร์โมนจากรังไข่ที่ควบคุมระบบสืบพันธุ์	6
2-2. การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของฮอร์โมนเอสโทรเจนและฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน ในระหว่างการตกไข่ของแพะ ซาเนน (Saanen)	7
2-3. แสดงโครงสร้างทางเคมีของฮอร์โมนเอสโทรเจน	9
2-4. ขั้นตอนการสังเคราะห์สเตียรอยด์ฮอร์โมนในรังไข่	10
2-5. แสดงโครงสร้างทางเคมีของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน	11
2-6. แสดงการสังเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในต่อมหมวกไตและต่อมเพศ	12
2-7. อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า CIDR-G	22
2-8. โครงสร้างของท่อแคปิลลารี (1) ที่ประกอบด้วยข้อ (2) และปล้อง (3) ที่เรียงสลับกันตามความยาวของท่อ	23
3-1. แสดงวิธีการใช้คอลัมน์ Hi Trap® Protein G ในขั้นตอนการทำให้แอนติบอดีบริสุทธิ์	29
3-2. แสดงการหาอัตราเจือจางที่เหมาะสมของ $MAbP_4$ และ P_4- HRP ด้วยวิธี ELISA	31
3-3. แสดงการหากราฟมาตรฐานและการวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาโดย competitive ELISA	32
3-4. แสดงการวัดปริมาณฮอร์โมนเอสโทรเจนในพลาสมาโดยวิธี competitive ELISA	34
3-5. อุปกรณ์ในการประดิษฐ์อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดในแพะ	35
3-6. อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบที่ 1 เป็นทรงกระบอกบรรจุชานอ้อยไว้ภายใน (A) แบบที่ 2 เป็นรูปตัววายโดยส่วนของปีกและลำตัวบรรจุด้วยชานอ้อย (B) และ แบบที่ 3 เป็นรูปตัววายโดยส่วนของปีกทำจากซิลิโคนและละตัวบรรจุด้วยชานอ้อย	35
3-7. อุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง	37
3-8. การล่อนชานอ้อยผ่านตะแกรงเบอร์ 16	38
3-9. ขั้นตอนในการประดิษฐ์อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดในแพะ	38
3-10. ภาพตัดตามขวางของท่อแคปิลลารีที่ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์	39
3-11. วิธีการบรรจุสารละลายฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนลงในอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด	40
3-12. การแช่อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เอง (ซ้าย) และอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า (CIDR-G®) (ขวา) ในสารละลายน้ำเกลือเพื่อวัดปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในห้องปฏิบัติการ	41

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
3-13. ขั้นตอนในการสอด Intravaginal Device เข้าช่องคลอดของแพะทดลอง	43
3-14. การเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำที่คอ (Jugular vein) ของแพะ	44
3-15. ขั้นตอนการทดลองการจัดการผสมพันธุ์แพะภายหลังจากการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด	44
4-1. แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร ในการหาอัตราการเจือจางของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรเจสเทอโรนจากโคลนเบอร์ 4B2 กับโปรเจสเทอโรนติดเอ็นไซม์ horseradish peroxidase ที่เหมาะสม	46
4-2. กราฟมาตรฐานฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนโดยวิธี competitive ELISA ที่ใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนจากโคลนเบอร์ 4B2	47
4-3. กราฟมาตรฐานฮอร์โมนเอสโทรเจนโดยวิธี competitive ELISA ที่ใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนเอสโทรเจนจากโคลนเบอร์ 4B9 1E4	48
4-4.เปรียบเทียบลักษณะท่อแคปิลลารีก่อนและหลังบรรจุสารละลายโปรเจสเทอโรน	52
4-5. พื้นผิวซิลิโคนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าที่เคลือบด้วยโปรเจสเทอโรน	52
4-6. กราฟการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเมื่อแช่ในสารละลายน้ำเกลือเป็นเวลา 10 วัน	53
4-7. ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนเมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เหนี่ยวนำการเป็นสัด	57
4-8. ปริมาณฮอร์โมนเอสโทรเจนเมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เหนี่ยวนำการเป็นสัด	60

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อักษรย่อและสัญญาลักษณ์

%	เปอร์เซ็นต์
^{o}C	องศาเซลเซียส
Ab	Antibody
Ag	Antigen
CIDR	Controlled internal drug release device
CL	Corpus luteum
E_2	Estradiol
eCG	Equine chorionic gonadotrophin
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FGA	Fluorogestone acetate
hCG	Human chorionic gonadotrophin
HRP	Horseradish peroxidase
LH	Luteinizing hormone
MAb	Monoclonal antibody
MAP	methyl acetoxy progesterone
Mg	Milligram
MGA	Melengestrol Acetate
Ml	Milliliter
P_4	Progesterone
PAb	Polyclonal antibody
$PGF_{2\alpha}$	Prostaglandin F2alpha
PMSG	Pregnant mare serum gonadotrophin
SMB	SynchroMate-B

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved