

อภิสิทธิ์ พลราช: ผลของการเสริม Extracellular vesicles ที่ได้จากเซลล์ BOECs ที่ต่างชนิดต่อการพัฒนาและคุณภาพของตัวอ่อนโคในหลอดแก้ว (EFFECTS OF SUPPLEMENTATION WITH DIFFERENT TYPES OF BOECs DERIVED EXTRACELLULAR VESICLES ON THE DEVELOPMENT AND QUALITY OF *IN VITRO* PRODUCED BOVINE EMBRYOS) อาจารย์ที่ปรึกษา: ศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย, 55 หน้า.

คำสำคัญ: อนุภาคเซลล์/การพัฒนาของตัวอ่อน/เซลล์เยื่อบุผิวที่นำไข่โค/การปฏิสนธิในหลอดแก้ว/ การโคลนนิ่ง

การผลิตตัวอ่อนในหลอดทดลอง (*In vitro* embryo production: IVEP) เป็นเทคโนโลยีสำคัญที่ช่วยส่งเสริมความก้าวหน้าทางพันธุกรรมและประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ในปศุสัตว์ อย่างไรก็ตาม สภาพแวดล้อมในหลอดทดลองไม่สามารถจำลองสัญญาณชีวภาพที่ซับซ้อนของระบบสืบพันธุ์เพศเมียได้อย่างสมบูรณ์ จึงถูกจำกัดคุณภาพและศักยภาพในการพัฒนาคุณภาพของตัวอ่อน โดยเฉพาะในตัวอ่อนที่ได้จากเทคนิคโคลนนิ่งด้วยการย้ายฝากนิวเคลียสด้วยเซลล์ร่างกาย (Somatic cell nuclear transfer: SCNT) ซึ่งโดยธรรมชาติมักมีศักยภาพในการพัฒนาต่ำ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของถุงส่งออกนอกเซลล์ (Extracellular vesicles: EVs) ที่ได้จากเซลล์เยื่อบุผิวของโค (BOECs) ซึ่งเพาะเลี้ยงสองระบบ ได้แก่ระบบเซลล์ชั้นเดียว (BOECs-M-EVs) และระบบถุงแขวนลอย (BOECs-V-EVs) ต่อการพัฒนาและคุณภาพของตัวอ่อนที่ผลิตโดยเทคนิค *in vitro* fertilization (IVF) และ SCNT โดย EVs ถูกแยกจากน้ำยาเลี้ยง BOECs ด้วยวิธีอัลตราเซนตริฟิวจ และตรวจสอบด้วยการวิเคราะห์ขนาดอนุภาค (nanoparticle tracking analysis, NTA) ซึ่งพบว่า EVs มีขนาดระหว่าง 118-131 nm จากนั้น EVs ถูกเติมในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนที่ความเข้มข้น 2×10^6 , 4×10^6 และ 8×10^6 อนุภาค/มิลลิลิตร ผลการทดลองพบว่า การเติม EVs โดยเฉพาะในความเข้มข้นสูง มีผลเพิ่มอัตราการได้ตัวอ่อนระยะ บลาสโตซิสต์ การขยายตัวของ blastocoel และจำนวนเซลล์ทั้งหมดในตัวอ่อน โดยมีความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของตัวอ่อนกับจำนวนเซลล์ นอกจากนี้ การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับความเป็น พลูริโพเทนท์ (*OCT4*, *NANOG*) และการยอมนับการฝังตัวของแม่ (*IFN-tau*) เพิ่มขึ้น ในขณะที่ยีน *BAX* ซึ่งเกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์ลดลง โดยเฉพาะในกลุ่ม SCNT ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า EVs จาก BOECs-M สามารถเลียนแบบสัญญาณจากแม่ ส่งเสริมคุณภาพของตัวอ่อน ซึ่งจะลดการตายของเซลล์ และสนับสนุนการพัฒนาของตัวอ่อนในหลอดทดลอง โดยเฉพาะผลิตด้วยเทคนิค SCNT ที่ตัวอ่อนมักมีศักยภาพในการพัฒนาต่ำ

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2567

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

APISIT POLRACHOM: EFFECTS OF SUPPLEMENTATION WITH DIFFERENT TYPES OF BOECs DERIVED-EXTRACELLULAR VESICLES ON THE DEVELOPMENT AND QUALITY OF *IN VITRO* PRODUCED BOVINE EMBRYOS. THESIS ADVISOR: PROF. RANGSUN PARNPAI, Ph.D., 55 PP.

Keyword: Extracellular vesicles/Embryonic development/Oviduct epithelial cells/
In vitro fertilization/Somatic cell nuclear transfer

In vitro embryo production (IVEP) is a key biotechnology tool for enhancing genetic progress and reproductive efficiency in livestock. However, conventional *in vitro* systems lack the complex signaling environment of the female reproductive, which limits embryo quality and developmental potential, particularly in somatic cell nuclear transfer (SCNT) embryos. Extracellular vesicles (EVs), nano-sized membrane-bound particles secreted by cells, play important roles in cell communication and early embryonic development. This study aimed to evaluate the effects of EVs derived from bovine oviduct epithelial cells (BOECs), cultured in either monolayer (BOECs-M-EVs) or vesicle-like suspension (BOECs-V-EVs), on the development and quality of embryos produced via *in vitro* fertilization (IVF) and SCNT. EVs isolated by ultracentrifugation and characterized using nanoparticle tracking analysis (NTA), confirming a size ranging between 118 to 131 nm. The isolated EVs were supplemented into embryo culture media at 2×10^6 , 4×10^6 , and 8×10^6 particles/mL. Results showed that EV supplementation significantly improved blastocyst formation rates, blastocoel expansion, and total cell numbers, particularly at higher concentrations. A positive correlation was observed between embryo diameter and total cell number, indicating enhanced proliferation. Moreover, gene expression analysis revealed upregulation of pluripotency (*OCT4*, *NANOG*) and maternal recognition (*IFNT-tau*) genes and downregulation of the pro-apoptotic gene *BAX*, especially in SCNT embryos. These findings suggest that BOECs-M-derived EVs can mimic maternal signals, enhance embryo quality by reducing cell death and supporting *in vitro* embryo development.

The study highlights the potential of BOECs-EVs as effective supplements to improve IVEP efficiency, particularly in SCNT systems where developmental potential is low.



School of Biotechnology
Academic Year 2024

Student's Signature
Advisor's Signature

[Handwritten signatures in blue ink]