การเลี้ยงเอมบริโอของหนูเมาซ์ด้วยน้ำยาเพาะเลี้ยงชนิดต่าง ๆ ในจานทดลอง

นางสาวกนกวรรณ มารต่อม

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สหสาขาวิชาสรีรวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2531

ISBN 974 - 568 - 938 - 6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

014484

CULTIVATION OF MOUSE EMBRYO IN VARIOUS CULTURE MEDIA IN VITRO

Miss Kanokwan Maltom

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Inter - Department of Physiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1988

ISBN 974-568-938-6

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเลี้ยงเอมบริโอของหนูเมาซ์ด้วยน้ำยาเพาะเลี้ยงชนิดต่าง ๆ ในจานทดลอง
โดย	นางสาวกนกวรรณ มารต่อม
ภาควิชา	สรีรวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ประมวล วีรุตมเสน
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. วิทยา ยศยิ่งยวด

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ประภา ลอยเพ็ชร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ประมวล วีรุตมเสน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร. วิทยา ยศยิ่งยวด)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ประสงค์ ศิริวิริยากุล)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กนกวรรณ มารต่อม : การเลี้ยงเอมบริโอของหนูเมาซ์ด้วยน้ำยาเพาะเลี้ยงชนิดต่าง ๆ ในจานทดลอง (CULTIVATION OF MOUSE EMBRYO IN VARIOUS CULTURE MEDIA IN VITRO) อ.ที่ปรึกษา : รศ.นพ. ประมวล วีรุตมเสน
อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร. วิทยา ยศยิ่งยวด, 85 หน้า

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาการเจริญและการแบ่งตัวของเอมบริโอหนูเมาซ์เพศเมียพันธุ์ผสม ซึ่งเกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างหนูเมาซ์เพศเมียพันธุ์แท้ (BALB/C) กับหนูเมาซ์เพศผู้พันธุ์แท้ (CD-1) โดยนำไข่ที่ได้รับการผสมแล้วของหนูเมาซ์สายพันธุ์ผสมนี้มาใส่ในน้ำยาเพาะเลี้ยงเอมบริโอ 3 ชนิดด้วยกันคือ Ham's F - 10, HTF และ T6 สังเกตุการเจริญเติบโตของเอมบริโอ (จนถึงระยะบลาสโตซีส) ในน้ำยาเพาะเลี้ยงแต่ละชนิด และศึกษาผลของซีรั่มชนิดต่าง ๆ (10% FCoS, 10% FBS, และ 5 มก./มล. BSA) ที่มีต่ออัตราการเจริญและการแบ่งตัวของเอมบริโอตลอดจนการเสื่อมสลาย และความอยู่รอดของเอมบริโอ นอกจากนี้ยังศึกษาการถ่ายฝากของบลาสโตซีสที่เพาะเลี้ยงภายในจานทดลองไปยังมดลูกของหนูเมาซ์ที่ตั้งท้องเทียมด้วย

ผลการวิจัยพบว่า เอมบริโอหนูเมาซ์สายพันธุ์ผสมนี้สามารถเจริญจากระยะ 2-เซลล์ เป็นบลาสโตซีสได้ในน้ำยาเพาะเลี้ยงทั้ง 3 ชนิด (Ham's F - 10, HTF และ T6) โดยน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF และ T6 ช่วยส่งเสริมการเจริญของเอมบริโอได้ดีกว่าน้ำยาเพาะเลี้ยง Ham's F-10 อย่างมีนัยสำคัญ ($P. < 0.05$) ใน Ham's F - 10 เอมบริโอเจริญเติบโตช้า และมีการเสื่อมสลายมากกว่าน้ำยาเพาะเลี้ยงชนิดอื่น น้ำยาเพาะเลี้ยงที่มีซีรั่มผสมจะช่วยส่งเสริมการเจริญของเอมบริโอได้ดีขึ้น พบว่าใน Ham's F - 10 ที่มีซีรั่มผสมอยู่ เอมบริโอจะเจริญเป็นบลาสโตซีสได้มากกว่าเอมบริโอที่เพาะเลี้ยงใน Ham's F - 10 อย่างเดียว และอัตราการเสื่อมสลายของเอมบริโอก็ลดลงด้วย ซีรั่ม 10% FCoS และ 10% FBS ให้ผลส่งเสริมการเจริญของเอมบริโอได้ดีกว่าซีรั่ม 5 มก./มล. BSA เมื่อเติมลงในน้ำยาเพาะเลี้ยงทั้ง 3 ชนิด นอกจากนี้เอมบริโอระยะบลาสโตซีสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในน้ำยาเพาะเลี้ยง T6 ผสมกับ 10% FCoS เมื่อถ่ายฝากไปยังมดลูกของหนูเมาซ์ที่ตั้งท้องเทียม พบว่าบลาสโตซีสสามารถเข้าฝังตัวและเจริญเติบโตจนครบกำหนดคลอดได้ถึงร้อยละ 48.95 ผลนี้ไม่แตกต่างจากการถ่ายฝากเอมบริโอระยะบลาสโตซีสที่ไม่ผ่านการเพาะเลี้ยง

ผลการวิจัยครั้งนี้สรุปได้ว่า สามารถเพาะเลี้ยงเอมบริโอของหนูเมาซ์พันธุ์ผสมรุ่น F_1 ให้เจริญเติบโตจากระยะ 2 - เซลล์ จนถึงระยะบลาสโตซีสได้ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง Ham's F - 10, HTF และ T6 ซีรั่มมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเอมบริโอและลดการเสื่อมสลาย นอกจากนี้สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงไม่มีผลกระทบต่อความอยู่รอดของเอมบริโอ

ภาควิชา สหสาขาสรีรวิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา สรีรวิทยา
ปีการศึกษา 2530 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

KANOKWAN MALTOM : CULTIVATION OF MOUSE EMBRYO IN VARIOUS CULTURE MEDIA IN VITRO
THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PRAMUAN VIRUTAMASEN, M.D.
THESIS CO-ADVISOR : ASSO. PROF. VITHAYA YODYINGYUAD, Ph.D.
85 PP.

This study was to design the development and cleavage of mouse embryos of female hybrids was carried out. Hybrids from a cross between the female BALB/C and male CD - 1 pure strains were used. The fertilized ova of hybrids were put into three growth media; Ham's F-10, HTF and T6. The development of embryos in each media was observed up to blastocyst stage. The effects of three different sera (10% FCoS, 10% FBS and 5 mg/ml of BSA) on the rate cleavage and degeneration of embryos were also studied. To assess the viability of these embryos, blastocyst developed in vitro were transfered to pseudopregnant recipients.

The results of the study showed that 2 - cell mouse embryos normally developed to blastocysts in the three culture media. The percentage of embryos which developed to the blastocyst were significantly high ($P < 0.05$) in HTF and T6 media as compared to Ham's F - 10. Delayed development of the embryo in Ham's F - 10 medium was observed, and the number of degenerated embryo in Ham's F - 10 medium was also high. The development of embryos in media containing sera were better than culture media - free sera. Culture media with either 10% FCoS or 10% FBA supported the embryo growth better than 5 mg/ml of BSA. Moreover the mouse blastocysts, developed in T6 + 10% FCoS, were able to implant and grow to term (48.95%) when transfered to pseudogregnant recipients similar to the transfer of embryos developed in vivo.

This study had proved that hybrid mouse embryos could developed from 2-cell stage to blastocysts in Ham's F - 10, HTF and T6, and sera could support the development and decrease degeneration of mouse embryos in vitro. Furthermore, the environmental conditions of the culture have no effect on the embryos viability.

ภาควิชา สหสาขาสรีรวิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา สรีรวิทยา
ปีการศึกษา 2530 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาของ รศ.นพ.ประมวล วีรุตมเสน อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้ให้คำแนะนำ และช่วยตรวจแก้ไขข้อบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้โดยตลอด จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี นอกจากนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.วิทยา ยศยิ่งยวด อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมการทำวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะบางประการเกี่ยวกับการทำวิจัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ตึกนวมินทราชินี โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือ ช่วยเหลือมาตลอดขณะทำการวิจัย โดยเฉพาะคุณเย็นจิต จันทร์-ประสิทธิ์ ที่ช่วยแนะนำการเตรียมน้ำยา, ช่วยจัดหาอุปกรณ์ที่จำเป็นต้องใช้ในการเพาะเลี้ยงเอมบริโอ ทำให้การวิจัยสะดวกยิ่งขึ้น และขอขอบคุณ คุณเกศรินทร์ แสงจันทร์ ที่ช่วยสอนเทคนิคการถ่ายฝากเอมบริโอพร้อมทั้งให้คำแนะนำเพิ่มเติม

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และคุณอรรถกร กู้ตระกูล ที่ให้ความสนับสนุนและเป็นกำลังใจ ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาเอื้อเฟื้อทุนบางส่วนในการทำวิจัยครั้งนี้ และท้ายสุดขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ ทุกท่านที่ให้กำลังใจ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือด้วยดีตลอดมา

กนกวรรณ มารต่อม

ความหมายคำย่อ

มม.	มิลลิเมตร
มล.	มิลลิลิตร
มก. / มล.	มิลลิกรัม ต่อ มิลลิลิตร
น.	นาฬิกา
mg	มิลลิกรัม
mm	มิลลิเมตร
ml	มิลลิลิตร
ul	ไมโครลิตร
mM	มิลลิโมล
ug / ml	ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร
gm / l	กรัม ต่อ ลิตร
Mol. Wt.	น้ำหนักโมเลกุล
e.g.	อาทิเช่น
U	ยูนิต (หน่วย)
I.U.	ยูนิตสากล (หน่วย)
P	ค่าความเชื่อมั่นทางสถิติ
^{o}F	องศาฟาเรนไฮต์

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ฆ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฆ

ความหมายคำย่อ ..... ง

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญรูป ..... ญ

บทที่

1. บทนำ 1

- การเจริญของไข่, การตกไข่, กระบวนการปฏิสนธิ และการฝังตัวของเอมบริโอ 1
- สารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของเอมบริโอในการเพาะเลี้ยง 6
- น้ำยาเพาะเลี้ยงสำหรับเพาะเลี้ยงเอมบริโอของหนูเมาซ์ 8
- การถ่ายฝากเอมบริโอ 10
- วัตถุประสงค์ในการวิจัย และประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย 12

2. ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย 15

- การเตรียมสัตว์ทดลอง 15
- เครื่องมือและอุปกรณ์สารเคมี 16
- น้ำยาที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเอมบริโอ 21
- การเตรียมน้ำยาเพาะเลี้ยงเอมบริโอ 26
- การเก็บเอมบริโอ 27
- การเพาะเลี้ยงเอมบริโอ 30

บทที่ หน้า

- การถ่ายฝากเอมบริโอ 30
- สถิติวิเคราะห์ 37

3. ผลการทดลอง 38

4. วิจารณ์และสรุปผล 60

เอกสารอ้างอิง 72

ประวัติผู้เขียน 85

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	แสดงส่วนประกอบของน้ำยาเพาะเลี้ยงที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเอมบริโอจากระยะ 2 – เซลล์ ถึงระยะบลาสโตซีส	9
1.2	แสดงความสำเร็จครั้งแรกในการถ่ายฝากเอมบริโอของสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม	14
2.1	แสดงตำแหน่งที่พบเอมบริโอระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ ภายหลังจากฉีด hCG	16
2.2	แสดงส่วนประกอบของน้ำยาเพาะเลี้ยงเอมบริโอทั้ง 3 ชนิดคือ Ham's F - 10, HTF และ T6	22
3.1	แสดงการเจริญเติบโตของเอมบริโอทุก 24 ชั่วโมง ระยะ 2 – เซลล์ ถึงระยะบลาสโตซีสในน้ำยาเพาะเลี้ยง 3 ชนิดคือ Ham's F - 10, HTF และ T6 นาน 72 ชั่วโมง ในจานเพาะเลี้ยง	39
3.2	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเอมบริโอระยะ 2 – เซลล์ ถึงระยะบลาสโตซีสในน้ำยาเพาะเลี้ยง 3 ชนิดคือ Ham's F - 10, HTF และ T6 นาน 72 ชั่วโมง ในจานเพาะเลี้ยง	40
3.3	แสดงการเปรียบเทียบชนิดของน้ำยาเพาะเลี้ยงแต่ละคู่ ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเอมบริโอหนูเมาซ์ระยะ 2 – เซลล์ เป็นบลาส - โตซีสในจานเพาะเลี้ยง	42
3.4	แสดงการเจริญเติบโตของเอมบริโอ ทุก 24 ชั่วโมง ระยะ 2 – เซลล์ ถึงระยะบลาสโตซีส ในน้ำยาเพาะเลี้ยง Ham's F - 10 ที่ไม่เติมซีรั่ม กับน้ำยาเพาะเลี้ยง Ham's F - 10 ที่มีการเติมซีรั่ม FCoS, FBS และ BSA นาน 72 ชั่วโมง ในจานเพาะเลี้ยง	44
3.5	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเอมบริโอระยะ 2 – เซลล์ ถึงระยะบลาสโตซีสในน้ำยาเพาะเลี้ยง Ham's F - 10 ที่มีการเติมซีรั่ม	

ตารางที่ หน้า

FCoS, FBS และ BSA นาน 72 ชั่วโมงในจานเพาะเลี้ยง 45

3.6 แสดงการเจริญเติบโตของเอมบริโอทุก 24 ชั่วโมง ระยะ 2 - เซลล์ ถึงระยะบลาสโตซีสในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF ที่ไม่เติมซีรั่ม กับน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF ที่มีการเติมซีรั่ม FCoS, FBS และ BSA นาน 72 ชั่วโมง ในจานเพาะเลี้ยง 48

3.7 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเอมบริโอระยะ 2 - เซลล์ ถึงระยะบลาสโตซีสในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF ที่ไม่เติมซีรั่ม กับน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF ที่มีการเติมซีรั่ม FCoS, FBS และ BSA นาน 72 ชั่วโมง ในจานเพาะเลี้ยง 49

3.8 แสดงการเจริญเติบโตของเอมบริโอทุก 24 ชั่วโมง ระยะ 2 - เซลล์ ถึงระยะบลาสโตซีส ในน้ำยาเพาะเลี้ยง T6 ที่ไม่เติมซีรั่ม กับน้ำยาเพาะเลี้ยง T6 ที่มีการเติมซีรั่ม FCoS, FBS และ BSA นาน 72 ชั่วโมงในจานเพาะเลี้ยง 52

3.9 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเอมบริโอ ระยะ 2 - เซลล์ ถึงระยะบลาสโตซีส ในน้ำยาเพาะเลี้ยง T6 ที่ไม่เติมซีรั่ม กับน้ำยาเพาะ - เลี้ยง T6 ที่มีการเติมซีรั่ม FCoS, FBS และ BSA นาน 72 ชั่วโมงในจานเพาะเลี้ยง 53

3.10 แสดงการเปรียบเทียบผลส่งเสริมการเจริญของเอมบริโอ จากระยะ 2 - เซลล์ เป็นบลาสโตซีสของ FCoS ในน้ำยาเพาะเลี้ยง Ham's F - 10, HTF และ T6 55

3.11 แสดงการเปรียบเทียบผลส่งเสริมการเจริญของเอมบริโอ จากระยะ 2 - เซลล์ เป็นบลาสโตซีสของ FBS ในน้ำยาเพาะเลี้ยง Ham's F - 10, HTF และ T6 56

3.12 แสดงการเปรียบเทียบผล ส่งเสริมการเจริญของเอมบริโอ จากระยะ 2 - เซลล์ เป็นบลาสโตซีสของ BSA ในน้ำยาเพาะเลี้ยง Ham's F - 10,

ตารางที่ หน้า

	HTF และ T6	56
3.13	แสดงผลการถ่ายฝากเอมบริโอระยะบลาสโตซีสในกลุ่มควบคุม (control group) ไปยัง recipients ที่ตั้งท้องเทียม	58
3.14	แสดงผลการถ่ายฝากเอมบริโอระยะบลาสโตซีสที่เจริญจากเอมบริโอระยะ 2 - เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง T6 + 10% FCoS	59

สารบัญรูป

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่		หน้า
1.1	สรุปขั้นตอนที่เกิดขึ้นในระบบท่อสืบพันธุ์ของเพศเมียที่นำไปสู่การปฏิสนธิ	3
1.2	แสดงแผนภาพที่ใช้แทนลักษณะการเกิดการเจริญของไข่, การตกไข่, ขบวนการผสมพันธุ์ และเอมบริโอระยะก่อนฝังตัว	4
2.1	แสดงอุปกรณ์และเครื่องมือผ่าตัดที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงและถ่ายฝากเอมบริโอ	19
2.2	แสดงอวัยวะสืบพันธุ์ของหนูเมาซ์เพศเมีย	20
2.3	แสดงการตัดแยกท่อนำไข่จากมดลูก โดยตัดบริเวณช่วงต่อระหว่างท่อนำไข่กับมดลูก	25
2.4	แสดงแผนภาพท่อนำไข่ของหนูเมาซ์	25
2.5	แสดงการฉีดขับเอาองค์ประกอบภายในท่อนำไข่ ลงใน embryological watchglass โดยใช้ plastic syringe	28
2.6	แสดงการเตรียม capillary pipette	29
2.7	แสดงเอมบริโอของหนูเมาซ์ระยะก่อนฝังตัว (กำลังขยาย 200 เท่า) ตั้งแต่ระยะ 1 - เซลล์ ถึงระยะบลาสโตซีส	31
2.8	ขั้นตอนการทำ Male Vasectomy โดยผ่าเปิดบริเวณถุงอัณฑะ	33
2.9	แสดงการถ่ายฝากเอมบริโอระยะบลาสโตซีสไปที่บริเวณปีกมดลูกของ recipient	35
2.10	แสดงลักษณะมดลูกของหนูเมาซ์ที่ตั้งท้อง 8 วัน	36
3.1	แสดงเปอร์เซ็นต์ของบลาสโตซีสที่เจริญจากเอมบริโอระยะ 2 - เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง Ham's F - 10, HTF และ T 6 ที่ไม่มีซีรั่ม ภายหลังเพาะเลี้ยงนาน 72 ชั่วโมง	41
3.2	แสดงเปอร์เซ็นต์ของบลาสโตซีสที่เจริญจากเอมบริโอระยะ 2 - เซลล์ ในน้ำยาเพาะเลี้ยง Ham's F - 10 ที่ผสมซีรั่มแตกต่างกัน 3 ชนิดคือ 10% FCoS, 10% FBS และ 5 มก. / มล. BSA กับ Ham's F - 10 ที่ไม่ผสมซีรั่ม ภายหลังการเพาะเลี้ยงนาน 72 ชั่วโมง	46

รูปที่ หน้า

3.3 แสดงเปอร์เซ็นต์ของบลาสโตซีสที่เจริญจากเอมบริโอระยะ 2 – เซลล์ในน้ำยาเพาะเลี้ยง HTF ที่ผสมซีรั่มแตกต่างกัน 3 ชนิดคือ 10% FCoS, 10% FBS และ 5 มก. / มล. BSA กับ HTF ที่ไม่ผสมซีรั่ม ภายหลังการเพาะเลี้ยงนาน 72 ชั่วโมง 50

3.4 แสดงเปอร์เซ็นต์ของบลาสโตซีสที่เจริญจากเอมบริโอระยะ 2 – เซลล์ในน้ำยาเพาะเลี้ยง T6 ที่ผสมซีรั่มแตกต่างกัน 3 ชนิดคือ 10% FCoS, 10% FBS และ 5 มก. / มล. BSA กับ T 6 ที่ไม่ผสมซีรั่ม ภายหลังการเพาะเลี้ยงนาน 72 ชั่วโมง 54