219818

แอลฟา-แอล-ฟูโคซิเคสเป็นเอนไซม์ที่พบในสิ่งมีชีวิตหลายชนิค และพบในเซลล์และ เนื้อเยื่อต่าง ๆ ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาลักษณะเฉพาะของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเคสใน พลาสมาของน้ำอสุจิของกระบือปลัก ทำการเก็บน้ำเชื้อ โคยใช้ช่องคลอคเทียม และนำมาตรวจสอบ คุณภาพเบื้องค้นพบว่าน้ำเชื้อมีปริมาครเฉลี่ย 3.75 มิลลิลิคร พีเอชเฉลี่ย 7.26 มีสีปกคิ อสุจิมีการ เคลื่อนที่ร้อยละ 70-85 และมีความเข้มข้นเฉลี่ย 1,046×10° เซลล์ต่อมิลลิลิตร การตรวจทำจำนวน ไอโซฟอร์มด้วยวิธี Isoelectric focusing พบไอโซฟอร์มของแอลฟา-แอล-ฟโคซิเคสในพลาสมา ของน้ำอสุจิของกระบือปลักประมาณ 12 ไอโซฟอร์ม ในช่วงพีไอ 6.48-9.32 (พีไอ 6.48, 6.96, 7.05, 7.20, 7.30, 7.49, 7.68, 7.79, 8.06, 8.13, 8.54 และ 9.32) และมีพืกสูงสุดที่พีไอ 7.49 หลังการย่อย ้ด้วย N-glycanase พบว่ารูปแบบไอโซฟอร์มมีการเปลี่ยนแปลงแสดงถึงการมีคุณสมบัติเป็น N-glycansหลังการย่อยด้วยนิวรามินิเคสพบว่าไอโซฟอร์มที่เป็นกรคมีจำนวนลคลงชัดเจนแสดงถึง การมีกรคเซียลิคต่ออยู่ตรงบริเวณส่วนปลายของโมเลกุล ประกอบด้วยไอโซฟอร์มประมาณ 4 ไอโซฟอร์ม ในช่วงพี่ไอ 7.66-8.34 (พี่ไอ 7.66, 8.00, 8.25 และ 8.34) การศึกษาแบบแผนโปรคืน ้ด้วยวิธี SDS-PAGE และวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเคสด้วยวิธี Western analysis พบแถบ โปรคีนของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเคสที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 61 และ 33 kDa การวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกูลในสภาพธรรมชาติด้วยวิธี Gel filtration chromatography พบว่าแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเคสในพลาสมาของน้ำอสุจิของกระบือปลักมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 252 kDa นอกจากนี้ได้ทำการสึกษาลักษณะเฉพาะของที่ถูกทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธี Dialysis, Gel filtration chromatography และ กรองด้วย 10 kDa molecular weight cut off โดยผลจาก วิธี SDS-PAGE และ Western analysis พบว่าแถบโปรตีนในพลาสมาของน้ำอสุจิที่ถูกแยกให้ บริสุทธิ์บางส่วนมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 70, 67, 57, 48 และ 24 kDa สำหรับบทบาทของ แอลฟา-แอล-ฟูโคซิเคสในกระบวนการสืบพันธุ์ของกระบือปลักยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัค

219818

 α -L-fucosidases are ubiquitous enzymes found in several species and have been studied in a wide variety of cell and tissue. In the present study, we characterized swamp buffalo seminal plasma Q-L-fucosidases. The semen was collected by using an artificial vagina and subjected to standard semen evaluation. The results showed that swamp buffalo semen had an average volume of 3.75 ml, average pH of 7.26 and normal color. The sperm motility was 70-85% and the average concentration was 1.046×10^6 cells/ml. Isoelectric focusing indicated the presence of approximately 12 isoforms with pIs between 6.48-9.32 (pI 6.48, 6.96, 7.05, 7.20, 7.30, 7.49, 7.68, 7.79, 8.06, 8.13, 8.54 and 9.32) and the pI of maximum peak at pI 7.49. N-glycanase treatments, followed by Isoelectric focusing analysis, yielded changes in isoforms profile. This result indicated that the enzyme is N-glycans. Treatments of α -L-fucosidase with neuraminidase and subjected to Isoelectric focusing provided further evidence that it contains terminal sialic acid residues with markedly reductions of acidic isoforms, with the presence of 4 isoforms with pIs between 7.66-8.34 (pI 7.66, 8.00, 8.25, and 8.34). Western analysis showed two bands of 61 and 33 kDa. Gel filtration chromatography indicated that the native enzyme contains a molecular weight of about 252 kDa. Partial purificatons of swamp buffalo seminal plasma α -L-fucosidases were accomplished by dialysis, gel filtration chromatography and filtration with a 10 kDa molecular weight cut off filter. The partial purified swamp buffalo seminal plasma α -L-fucosidases were characterized. Both SDA-PAGE and Western analysis showed that the partial purified enzymes from seminal plasma contain protein bands of about 70, 67, 57, 48 and 24 kDa. The function of α -L-fucosidase in buffalo reproduction is still unknown.