

สรารุข แก้วศรี. 2549. **ลักษณะเฉพาะของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสในพลาสมาของน้ำอสุจิของ**

**กระบือปลัก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. [ISBN 974-116-851-9]

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์:** อาจารย์ ดร.สัมภาษณ์ คุณสุข

## บทคัดย่อ

แอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ที่พบในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด และพบในเซลล์และเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาลักษณะเฉพาะของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสในพลาสมาของน้ำอสุจิของกระบือปลัก ทำการเก็บน้ำเชื้อโดยใช้ช่องคลอดเทียม และนำมาตรวจสอบคุณภาพเบื้องต้นพบว่าน้ำเชื้อมีปริมาตรเฉลี่ย 3.75 มิลลิลิตร พีเอชเฉลี่ย 7.26 มีสีปกติ อสุจิมีการเคลื่อนที่ร้อยละ 70-85 และมีความเข้มข้นเฉลี่ย  $1,046 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร การตรวจหาจำนวนไอโซฟอร์มด้วยวิธี Isoelectric focusing พบไอโซฟอร์มของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสในพลาสมาของน้ำอสุจิของกระบือปลักประมาณ 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) และมีพีคสูงสุดที่พีไอ 7.49 หลังการย่อยด้วย *N*-glycanase พบว่ารูปแบบไอโซฟอร์มมีการเปลี่ยนแปลงแสดงถึงการมีคุณสมบัติเป็น *N*-glycans หลังการย่อยด้วยนิวรามิเนสพบว่าไอโซฟอร์มที่เป็นกรดมีจำนวนลดลงชัดเจนแสดงถึงการมีกรดเซียลิกต่ออยู่ตรงบริเวณส่วนปลายของโมเลกุล ประกอบด้วยไอโซฟอร์มประมาณ 4 ไอโซฟอร์ม ในช่วงพีไอ 7.66-8.34 (พีไอ 7.66, 8.00, 8.25 และ 8.34) การศึกษาแบบแผนโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE และวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสด้วยวิธี Western analysis พบแถบโปรตีนของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 61 และ 33 kDa การวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลในสภาพธรรมชาติด้วยวิธี Gel filtration chromatography พบว่าแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสในพลาสมาของน้ำอสุจิของกระบือปลักมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 252 kDa นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาลักษณะเฉพาะของที่ถูกทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธี Dialysis, Gel filtration chromatography และ กรองด้วย 10 kDa molecular weight cut off โดยผลจากวิธี SDS-PAGE และ Western analysis พบว่าแถบโปรตีนในพลาสมาของน้ำอสุจิที่ถูกแยกให้บริสุทธิ์บางส่วนมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 70, 67, 57, 48 และ 24 kDa สำหรับบทบาทของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสในกระบวนการสืบพันธุ์ของกระบือปลักยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

Sarawut Kaewsri. 2006. *Characterization of Swamp Buffalo (Bubalus bubalis L.) Seminal*

*Plasma  $\alpha$ -L-fucosidase*. Master of Science Thesis in Biology, Graduate School,

Khon Kaen University. [ISBN 974-116-851-9]

**Thesis Advisor:** Dr.Sumpars Khunsook

## ABSTRACT

$\alpha$ -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  $\alpha$ -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  $1,046 \times 10^6$  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  $\alpha$ -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 purifications of swamp buffalo seminal plasma  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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  $\alpha$ -L-fucosidase in buffalo reproduction is still unknown.