

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1. ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย	1
2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
3. ขอบเขตของการวิจัย	3
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 วรรณกรรมและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
1. กระบือ	4
2. ลักษณะทั่วไปของเอนไซม์	8
3. แอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดส	8
4. ไอโซฟอร์ม	14
5. การทำให้โปรตีนบริสุทธิ์	20
6. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	21
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	26
1. การเก็บตัวอย่างน้ำเชื้อสดจากกระบือปลัก	26
2. การตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้น	26
3. การแยกส่วนพลาสมาของน้ำอสุจิออกจากน้ำเชื้อสดกระบือปลัก	27
4. การตรวจวัดกิจกรรมของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดส	27
5. การทำ Dialysis โปรตีน	27
6. การศึกษาลักษณะเฉพาะของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดส ในพลาสมาของน้ำอสุจิของกระบือปลัก	28

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
7. การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนและลักษณะเฉพาะของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเคส ในพลาสมาของน้ำอสุจิของกระบือปลัก	33
บทที่ 4 ผลการวิจัย	35
1. การตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้น	35
2. ลักษณะเฉพาะของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเคส ในพลาสมาของน้ำอสุจิ ของกระบือปลัก	35
3. ลักษณะเฉพาะของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเคส ในพลาสมาของน้ำอสุจิ ของกระบือปลักที่ทำให้บริสุทธิ์บางส่วน	45
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการวิจัย	48
เอกสารอ้างอิง	57
ภาคผนวก	63
ภาคผนวก ก การรีดน้ำเชื้อกระบือปลักและ เกณฑ์การตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อ	64
ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมีและวิธีดำเนินการวิจัย	72
ประวัติผู้เขียน	89

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	สถิติกระบือปลักในประเทศไทยแสดงรายภาคปี พ.ศ.2538-2548	7
ตารางที่ 2	คุณสมบัติทางโครงสร้างของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสใน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมบางชนิด	18
ตารางที่ 3	ปริมาตรสารละลายสำหรับคอลัมน์ IEF	29
ตารางที่ 4	น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐานจากวิธี Gel filtration chromatography	32
ตารางที่ 5	คุณลักษณะของน้ำเชื้อกระบือปลักและกระบือแม่น้ำ	68
ตารางที่ 6	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐาน จากวิธี SDS-PAGE และ Western analysis	86

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ลักษณะของกระป๋องปลัก	6
ภาพที่ 2 โครงสร้างของน้ำตาลแอลฟูโคส	10
ภาพที่ 3 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแสดง ลักษณะภายนอกของโซนาเพลลูซิดา	12
ภาพที่ 4 การจัดเรียงตัวกันของ ZP1 ZP2 และ ZP3 ประกอบกันเป็น โซนาเพลลูซิดา	12
ภาพที่ 5 ทิศทางการเคลื่อนที่ของโปรตีนที่ถูกแยกโดยเทคนิค IEF	17
ภาพที่ 6 โครงสร้างของกรดเซียลิก	19
ภาพที่ 7 แสดงการใช้ช่องคลอดเทียมในการรีดเก็บน้ำเชื้อกระป๋องปลัก	26
ภาพที่ 8 คอลัมน์ IEF ขนาด 40 มิลลิเมตร	30
ภาพที่ 9 จำนวนไอโซฟอร์มของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสใน พลาสมาของน้ำอสุจิของกระป๋องปลัก	36
ภาพที่ 10 จำนวนไอโซฟอร์มของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสใน พลาสมาของน้ำอสุจิของกระป๋องปลักก่อนการย่อยด้วย <i>N</i> -glycanase	37
ภาพที่ 11 จำนวนไอโซฟอร์มของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสใน พลาสมาของน้ำอสุจิของกระป๋องปลักหลังการย่อยด้วย <i>N</i> -glycanase	37
ภาพที่ 12 จำนวนไอโซฟอร์มของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดส ในพลาสมาของน้ำอสุจิของกระป๋องปลักก่อนการย่อยด้วยนิวรามิเนส	39
ภาพที่ 13 จำนวนไอโซฟอร์มของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดส ในพลาสมาของน้ำอสุจิของกระป๋องปลักหลังการย่อยด้วยนิวรามิเนส	39
ภาพที่ 14 แสดงแบบแผน โปรตีนในพลาสมาของน้ำอสุจิของกระป๋องปลัก ด้วยวิธี SDS-PAGE แล้วย้อมด้วย Silver staining	41
ภาพที่ 15 แสดงแถบโปรตีนของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดส ในพลาสมาของน้ำอสุจิของกระป๋องปลักด้วยวิธี Western analysis	42

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 16 แสดงแถบโปรตีนของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสในพลาสมาของน้ำอสุจิ ของกระบือปลัก หลังถูกย่อยด้วย <i>N</i> -glycanase ด้วยวิธี Western analysis	43
ภาพที่ 17 ผลการตรวจวัดกิจกรรมของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสในพลาสมาของ น้ำอสุจิของกระบือปลัก จากวิธี Gel filtration chromatography	44
ภาพที่ 18 น้ำหนักโมเลกุลของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสในพลาสมาของน้ำอสุจิ ของกระบือปลักในสภาพธรรมชาติ จากวิธี Gel filtration chromatography	45
ภาพที่ 19 แสดงแบบแผนโปรตีนในพลาสมาของน้ำอสุจิของกระบือปลัก ด้วยวิธี SDS-PAGE แล้วย้อมด้วย Silver staining	46
ภาพที่ 20 แสดงแถบโปรตีนของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสในพลาสมาของน้ำอสุจิ ของกระบือปลักที่ถูกทำให้บริสุทธิ์บางส่วน ด้วยวิธี Western analysis	47
ภาพที่ 21 แสดงจำนวนไอโซฟอร์มของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดส ในพลาสมาของน้ำอสุจิของกระบือปลัก	50
ภาพที่ 22 แสดงจำนวนไอโซฟอร์มของแอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดสใน พลาสมาของน้ำอสุจิของกระบือปลัก	50
ภาพที่ 23 แสดงช่องคลอดเทียม (artificial vagina, AV)	66
ภาพที่ 24 แสดงรูปร่างตัวอสุจิกระบือปลัก	67
ภาพที่ 25 กราฟมาตรฐานของโปรตีนมาตรฐานจากวิธี SDS-PAGE และ Western analysis	87