

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการรูป	(10)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(13)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์	23
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	24
วัสดุ	24
อุปกรณ์	27
วิธีการ	28
3. ผลการทดลองและวิจารณ์	43
4. สรุป	85
เอกสารอ้างอิง	88
ภาคผนวก	100
ประวัติผู้เขียน	101

## รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	น้ำหนักโมเลกุลของไวเทลโลจีนิของปลาชนิดต่าง ๆ	14
2	องค์ประกอบกรดอะมิโนของไวเทลโลจีนิในปู กบ และปลาชนิดต่าง ๆ	15
3	ปริมาณฟอสเฟตของปลาสดของปลาเทศเมื่อยมีไข่และสารละลายที่แยกได้จากคอลัมน์ DEAE-Sephacel	48
4	การทำให้ไวเทลโลจีนิบริสุทธิ์จากปลาสด	50

## รายการรูป

รูปที่	หน้า	
1	ปลากะบอบอกดำ ( <i>Lisa subviridis</i> )	4
2	แบบแผนโปรตีนของพลาสมาปลากะบอบอกดำใน Nondenaturing PAGE ที่ย้อมด้วยสีคумаซึบลู (A) จาก Western blot ที่ย้อมด้วยสีอะมิโดแบล็คบี (B) และย้อมด้วยแอนติบอดีต่อไวเทลโลจีนิของปลากะรัง (C)	44
3	การแยกไวเทลโลจีนิจากพลาสมาด้วยคอลัมน์ DEAE-Sephacel	46
4	แบบแผนโปรตีนใน Nondenaturing PAGE ของสารละลายพีค D1-D4 ที่ได้จากการแยกด้วยคอลัมน์ DEAE-Sephacel	47
5	การทำ Ouchterlony double immunodiffusion ของแอนติบอดีต่อไวเทลโลจีนิของปลากะรังกับไวเทลโลจีนิของปลากะบอบอกดำ ที่แยกได้จากคอลัมน์ DEAE-Sephacel และ Sephadex G-200	49
6	การแยกไวเทลโลจีนิจากสารละลายพีค D2 และ D3 ที่ได้จากคอลัมน์ DEAE-Sephacel ด้วยคอลัมน์ Sephadex G-200	52
7	การทำ Western blot เปรียบเทียบระหว่างการย้อมสี Ponceau S (A) กับการย้อมด้วยแอนติบอดีต่อไวเทลโลจีนิของปลากะรัง (B) ของแถบโปรตีนที่ได้จาก Preparative PAGE ของสารละลายพีค D3	54
8	แบบแผนโปรตีนใน Nondenaturing PAGE ของพลาสมาหลังการแยกโดย Ultracentrifugation ครั้งที่ 1	56
9	การทำ Western blot ของพลาสมาที่แยกโดย Ultracentrifugation ครั้งที่ 1 และย้อมด้วยสีอะมิโดแบล็คบี (A) หรือย้อมด้วยแอนติบอดีต่อไวเทลโลจีนิของปลากะรัง (B)	57

## รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า	
10	แบบแผนโปรตีนใน Nondenaturing PAGE ของพลาสมาที่แยกด้วย Ultracentrifugation	59
11	การทำให้ไวเทลโลจีนินบริสุทธิ์จากสารละลาย $d=1.23$ ที่ได้จากการทำ Ultracentrifugation ครั้งที่ 1 โดยคอลัมน์ Superdex 200	61
12	แบบแผนโปรตีนใน Nondenaturing PAGE ของสารละลาย $d=1.23$ ที่ได้จากการทำ Ultracentrifugation ครั้งที่ 1 ซึ่งทำให้บริสุทธิ์ต่อโดยคอลัมน์ Superdex 200 และย้อมแบบซิลเวอร์ (A) หรือโดย Preparative PAGE และย้อมด้วยสีคумаซีบลู (B)	62
13	แบบแผนของไวเทลโลจีนินบริสุทธิ์ใน SDS-PAGE สภาพรีดิวิซ์ ย้อมด้วยสีคумаซีบลู (A) ย้อมด้วยชุดย้อมไกลโคโปรตีน (B) และย้อมทับด้วยสีบลู (C)	65
14	แบบแผนของไวเทลโลจีนินบริสุทธิ์ใน Nondenaturing PAGE ย้อมด้วยสีซูดานแบล็คบี (B) แล้วย้อมทับด้วยสีคумаซีบลู (A) และย้อมแบบซิลเวอร์ (C) หรือย้อมด้วยชุดย้อมฟอสโฟโปรตีน (D)	67
15	การเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของโปรตีนมาตรฐาน (A) และไวเทลโลจีนินบริสุทธิ์ (B) ใน Nondenaturing PAGE ที่มีความเข้มข้นของเจล 4-9%	69
16	กราฟมาตรฐานระหว่างความชันของการเคลื่อนที่สัมพัทธ์กับน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐาน	70
17	การทำ Ouchterlony double immunodiffusion ของการสังเคราะห์แอนติบอดีต่อไวเทลโลจีนินของปลากระบอกดำในซีรัมกระต่าย	73

## รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
18	การทำ Ouchterlony double immunodiffusion ของแอนติบอดีต่อไวเทลโลจีนินของปลากระบอกดำเพศเมียกับพลาสมาและสารสกัดเนื้อเยื่อของปลาเพศเมียชนิดต่าง ๆ	75
19	การย้อม Nondenaturing gel ด้วยสีคูมาซีบลู (A) เปรียบเทียบกับการทำ Western blot ระหว่างการย้อมด้วยสี Ponceau S (B) กับการย้อมด้วยแอนติบอดีต่อไวเทลโลจีนินของปลากระบอกดำ (C) และแอนติบอดีต่อไวเทลโลจีนินของปลากะรัง (D)	79
20	การทำ Western blot ของ SDS-PAGE เปรียบเทียบระหว่างการย้อมด้วยสีคูมาซีบลู (A) สี Ponceau S (B) กับการย้อมด้วยแอนติบอดีต่อไวเทลโลจีนินของปลากระบอกดำ (C) และการบ่มด้วยไวเทลโลจีนินบริสุทธิ์แล้วย้อมต่อด้วยแอนติบอดีต่อไวเทลโลจีนินของปลากระบอกดำ (D)	82