



การพัฒนาเทคนิค RIA เพื่อวัดระดับพลาสมาไวเทลโลจีนินซึ่งใช้เป็น
ตัวบ่งชี้วงจรการสืบพันธุ์ในปลากะรัง

Development of Radio Immuno Assay (RIA) for Measuring
Plasma Vitellogenin : an Indicator of Reproductive Cycle in Grouper

โดย

รศ.ดร.ประภาพร อุตารพันธุ์
นายไพบุณย์ บุญลิปตานนท์
นางสาวเจนจิตร คงกำเนิก

คือ

เลขหมู่	SL636.518 VAE 2520°
Bib Key	211107 /
	2.1 ส.ย. 2544

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
ที่ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณคณะวิทยาศาสตร์
ประจำปี 2537-2539

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้สามารถพัฒนาเทคนิค RIA ที่มี ^3H -ไวเทลโลจินิน เป็น tracer ในการวัดระดับไวเทลโลจินินในพลาสมาของปลากะรัง แทนการใช้ ^{125}I -ไวเทลโลจินินเป็น tracer ดังที่มีรายงานในปลาชนิดอื่น ๆ โดยพบว่าสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค RIA นี้ จะต้องใช้ ^3H -ไวเทลโลจินิน $180\ \mu\text{g}$ ผสมกับแอนติบอดี $475\ \mu\text{g}$ ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง 6 ชั่วโมง และที่ 4°C อีก 72 ชั่วโมง แล้วแยกโปรตีนเชิงซ้อนออกจาก ^3H -ไวเทลโลจินินอิสระด้วย 8% polyethylene glycol กราฟมาตรฐานไวเทลโลจินินที่ให้ค่าอยู่ในช่วงเส้นตรงคือ $100\text{-}1,600\ \mu\text{g}$ ปริมาณไวเทลโลจินินในพลาสมาตัวอย่างที่หาได้โดยวิธีนี้พบว่าไม่แตกต่างจากการหาโดยวิธี rocket immunoelectrophoresis (ที่รายงานในส่วนที่ III)

เทคนิค RIA ที่พัฒนาได้มีข้อเสียคือในแต่ละการวิเคราะห์ ใช้เวลานานมาก และต้องใช้ ^3H -ไวเทลโลจินินปริมาณสูงมาก ($180\ \mu\text{g}$) หรือมีความไวต่ำกว่าการใช้ ^{125}I -ไวเทลโลจินิน (ระดับ ng) เป็น tracer มาก

ABSTRACT

The antibody against vitellogenin purified from grouper plasma was raised in rabbits. The antibody cross-reacted well with the protein in the plasma, the liver and the ovary of female grouper. It also cross-reacted with plasma of estradiol treated juvenile grouper and of some marine females. No cross-reactivity was found when the plasma from male grouper or some freshwater females were used in the test.

Plasma vitellogenin concentration in female grouper is in relation to the development of the gonad expressed as a gonadosomatic index (GSI). Oocyte maturation in this species can be divided into 6 stages of the previtellogenic and the vitellogenic phases. Together with growth of oocytes, the ovarian development can be divided into 5 stages. In female grouper, no change in plasma vitellogenin level was detected from March to June. It increased from June to reach maximum 1 month before spawning in December. A linear reaction appeared between the concentration of vitellogenin in the plasma and GSI, with the exception of the last month before spawning which plasma vitellogenin dropped gradually while the gonads continued to grow. Grouper vitellogenin is female-specific plasma protein and its synthesis can be induced in juvenile fish by exogenous estradiol.