9 AUG 1996

PURIFICATION AND PROPERTY OF SWAMP BUFFALO PITUITARY LUTEINIZING HORMONE

RAPEE BOONPLUEANG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

With compliments
of

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1996

Copyright by Mahidol University

TH
R916p
1996

36101

ชื่อวิทยานิพนธ์ การสกัดบริสุทธิ์และคุณสมบัติของฮอร์โมนกระตุ้นการตกไข่จากต่อมใต้สมองกระบือปลัก

ผู้วิจัย ระพี บุญเปลื้อง

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ปรีชา กลิ่นเกษร, Ph.D.

วิฑูรย์ ไวยนันท์, Ph.D.

เรือน สมณะ, M.D., Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 29 เมษายน พ.ศ. 2539

บทคัดย่อ

ต่อมใต้สมองส่วนหน้าของกระบือปลักน้ำหนักรวม 500 กรัม นำมาสกัดฮอร์โมนกระตุ้นการตกไข่ของกระบือปลัก (buLH) ให้บริสุทธิ์ โดยใช้วิธีการสกัดด้วยน้ำ การตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) การตกตะกอนด้วยเอธานอล (ethanol) การแยกสกัดฮอร์โมนด้วย แคตอิออน เอ็กซ์เชนจ์ โครมาโตกราฟฟี่ (cation exchange chromatography : CM column) และการแยกสกัดฮอร์โมนด้วย แอนอิออน เอ็กซ์เชนจ์ โครมาโตกราฟฟี่ (anion exchange chromatography : DE column) ตามลำดับ พบว่าจากการทดสอบเบื้องต้น สารละลายอิ่มตัวแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการตกตะกอน มีช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 35-55% ความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอธานอลสำหรับการตกตะกอนคือ 50% ปริมาตรต่อปริมาตร การแยกสกัดฮอร์โมนด้วยแคตอิออน เอ็กซ์เชนจ์ โครมาโตกราฟฟี่นั้น พบว่า CM คอลัมน์ pH 5.5 เหมาะสมสำหรับการยึดจับฮอร์โมนกระตุ้นการตกไข่ของกระบือปลัก และพบว่าฮอร์โมนนี้ถูกขับออกจากคอลัมน์ได้ด้วยสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ pH 5.5 ส่วนการแยกสกัดฮอร์โมนด้วยแอนอิออน เอ็กซ์เชนจ์ โครมาโตกราฟฟี่นั้น พบว่า DE คอลัมน์ pH 7.5 เหมาะสมสำหรับการยึดจับฮอร์โมนนี้ buLHดังกล่าวถูกขับออกจากคอลัมน์ได้ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่ pH 7.5

จากผลการทดลองพบว่า จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของกระบือปลักน้ำหนักรวม 500 กรัม เมื่อทำการสกัดบริสุทธิ์ทุกขั้นตอนแล้ว ได้ฮอร์โมนกระตุ้นการตกไข่ของกระบือปลักซึ่งยังไม่บริสุทธิ์มากนักมีน้ำหนักเท่ากับ 26 มิลลิกรัม และพบว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพ (LH bioactivity) เท่ากับ 2.72 หน่วยต่อมิลลิกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

Thesis Title	Purification and Property of Swamp Buffalo Pituitary Luteinizing Hormone
Name	Rapee Boonplueang
Degree	Master of Science (Environmental Biology)
Thesis Supervisory Committee	
	Preecha Klingesorn, Ph.D.
	Vithoon Viyanant, Ph.D.
	Reon Somana, M D., Ph.D.
Date of Graduation	29 April B.E. 2539 (1996)

ABSTRACT

In this experiment, 500 g of fresh frozen swamp buffalo anterior pituitaries of unidentified sex and age were used for luteinizing hormone (LH) purification by water extraction, $(NH_4)_2SO_4$ precipitation, ethanol precipitation, cation exchange chromatography (CM column) and anion exchange chromatography (DE column). It was found that the optimal range of $(NH_4)_2SO_4$ concentration for swamp buffalo LH (buLH) precipitation was 35 - 55% saturation. The optimal ethanol concentration for buLH precipitation was 50% (v/v). For the cation exchange chromatography, it was found that a CM column equilibrated with 0.005 M citrate buffer pH 5.5 was suitable for buLH purification and buLH could be eluted with 0.10 M citrate buffer, pH 5.5. Concerning the anion exchange chromatography, it was found that a DE column equilibrated with 0.005 M phosphate buffer pH 7.5 was suitable for buLH purification and buLH could be easily eluted with 0.05 M phosphate buffer pH 7 5. From 500 g of frozen swamp buffalo anterior pituitaries, 26 mg of partially purified buLH was obtained and the LH bioactivity was found to be 2.72 U/mg.

Copyright by Mahidol University