การศึกษาผลของเซรั่มลิงแสม (Macaca fascicularis) ต่อการพัฒนาโมเลกุล FSH ชนิดไบโอแอคทีพเปรียบเทียบกับอิมมูโนแอคทีพในเนื้อเยื่อต่อมใต้สมองของหนูขาวก่อนวัยเจริญพันธุ์

พันตรี ถวัลย์ ฤกษ์งาม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สหสาขาวิชาสรีรวิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2529

ISBN 974-567-041-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

011930
I 15321565

INVESTIGATION OF SERUM FACTORS IN MACACA FASCICULARIS ON THE DEVELOPMENT OF BIOACTIVE VERSUS IMMUNOACTIVE FSH MOLECULE FROM IMMATURE RAT PITUITARY CELLS IN VITRO

Major Thaval Rerksngarm

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Inter-Department of Physiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1986

ISBN 974-567-041-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาผลของเซรั่มลิงแสม (Macaca fascicularis) ต่อการพัฒนาไมเลกุล FSH ชนิดไบโอแอคทีพเปรียบเทียบกับอิมมูโนแอคทีพในเนื้อเยื่อต่อมใต้สมองของหนูขาวก่อนวัย เจริญพันธุ์
โดย	พันตรี ถวัลย์ ฤกษ์งาม
ภาควิชา	สหสาขาวิชาสรีรวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.หรรษา อัศวเรืองชัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บัณฑิตวิทยาลัย. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร.อายุส พิชัยชาญณรงค์)

.....กรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร.ม.ร.ว.พูนพิพงศ์ วรวุฒิ)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.กนก ภาวสุทธิไพศิฐ)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.หรรษา อัศวเรืองชัย)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาผลของเซรั่มลิงแสม (Macaca fascicularis) ต่อการพัฒนาโมเลกุล FSH ชนิดไบโอแอคทีพเปรียบเทียบกับอิมมูโนแอคทีพในเนื้อเยื่อต่อมใต้สมองของหนูขาวก่อนวัยเจริญพันธุ์

ชื่อนิสิต พ.ต.ถวัลย์ ฤกษ์งาม

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.หรรษา อัศวเรืองชัย

ภาควิชา สหสาขาวิชาสรีรวิทยา

ปีการศึกษา 2529

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้ทำขึ้นเพื่อศึกษาผลของเซรั่มและค้นหาองค์ประกอบในเซรั่มลิงแสมจากระยะการเจริญเติบโต 3 ระยะ คือระยะก่อนวัยเจริญพันธุ์ อายุ 1 ปี 6 เดือน (S_1) ระยะก่อนวัยรุ่น อายุ 3 ปี (S_2) และระยะโตเต็มวัย อายุ 7 ปี (S_3) ทั้งเพศผู้และเพศเมียที่มีผลต่อการพัฒนาโมเลกุล FSH ชนิดไบโอแอคทีพเปรียบเทียบกับอิมมูโนแอคทีพโดยใช้วิธีเพาะเลี้ยงเซลล์จากต่อมใต้สมองของหนูขาววัยก่อนเจริญพันธุ์ (อายุ 23 วัน)เป็นแบบของการทดลอง แต่ละหลุมเลี้ยงเซลล์จะมีเซลล์ 10^5 เซลล์ใน DMEM 2 มล.ที่มี HS 10 % และ FBS 2.5 % หลังจากพรีอินคิวเบชั่น 48 ชั่วโมง เริ่มต้นการทดลองโดยการเติมเซรั่มระยะต่างๆควบคู่ไปกับกลุ่มควบคุมและแต่ละกลุ่มทำซ้ำ 3 หลุม จากนั้นเก็บอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 24 ชั่วโมง 3 ครั้ง ผลการทดลองโดยการวัดด้วยวิธีไบโอเอสเส พบว่าค่าไบโอแอคติวิตีของ FSH ในกลุ่มควบคุมจะคงที่ตลอดในอาหารเลี้ยงเซลล์ทั้ง 3 ครั้งโดยมีค่าประมาณ 10 นก./10^5เซลล์ แต่ค่าอิมมูโน--แอคติวิตีของกลุ่มควบคุมเป็น 5.78 $\pm$ 0.36 นก./10^5เซลล์ และจะลดลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ครั้งที่ 3 และ 4 เป็น 3.77 $\pm$ 0.15 และ 3.28 $\pm$ 0.21 นก./10^5เซลล์ตามลำดับ

จากการเติมเซรั่มลิงแสมระยะต่างๆทั้ง 6 กลุ่มการทดลอง พบว่าการเติมเซรั่มลิงแสมระยะก่อนวัยเจริญพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียไม่ทำให้ค่าไบโอแอคติวิตีเปลี่ยนแปลงไปจากกลุ่มควบคุม (9.93 $\pm$ 0.91 และ 10.22 $\pm$ 0.22 เทียบกับ 11.15 $\pm$ 0.41 นก./10^5เซลล์)และค่าอิมมูโนแอคติวิตีก็ไม่เปลี่ยนแปลงไปจากกลุ่มควบคุมเช่นเดียวกัน (6.27 $\pm$ 0.67 และ 6.7 $\pm$ 0.58 เทียบกับ 5.78 $\pm$ 0.36 นก./10^5 เซลล์) แต่อัตราส่วนของ BA:RIA จากกลุ่มที่ใช้เซรั่มเพศเมียแสดงแนวโน้มที่จะลดต่ำลงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (1.54 $\pm$ 0.12 เทียบกับ 1.95 $\pm$ 0.07 นก./10^5 เซลล์) การเติมเซรั่มลิงแสมเพศผู้ระยะก่อนวัยรุ่นเท่านั้น

ที่มีผลกระตุ้นค่าไบโอแอคติวิตี (23.80 ± 0.71 เทียบกับ 11.15 ± 0.41 นก./10^5 เซลล์) และค่าอิมมูโนแอคติวิตี (9.72 ± 0.23 เทียบกับ 5.78 ± 0.36 นก./10^5 เซลล์) และทำให้อัตราส่วน BA:RIA เพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (2.45 ± 0.12 เทียบกับ 1.95 ± 0.07) เซรั่มลิงแสมระยะก่อนวัยรุ่นเพศเมียไม่สามารถเปลี่ยนค่าไบโอแอคติวิตี แต่ผลต่อการเพิ่มค่าอิมมูโนแอคติวิตีเป็นเช่นเดียวกับผลของเซรั่มลิงเพศผู้จึงทำให้อัตราส่วนBA:RIA ลดลง ส่วนเซรั่มลิงระยะโตเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมียมีผลไปเพิ่มค่าอิมมูโนแอคติวิตี (7.23 ± 0.91 และ 6.54 ± 0.29 เทียบกับ 5.78 ± 0.36 นก./10^5 เซลล์) แต่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงค่าไบโอแอคติวิตี (12.80 ± 1.22 และ 12.03 ± 1.09 เทียบกับ 11.15 ± 0.41 นก./10^5 เซลล์)

เมื่อเติม GnRH 10^{-9} M. ร่วมกับเซรั่มลิงแสมระยะต่างๆดังกล่าวข้างต้น พบว่าเซรั่มลิงเพศผู้ทั้ง 3 ระยะและเซรั่มลิงเพศเมียระยะโตเต็มวัยเท่านั้นที่ไปเพิ่มค่าไบโอแอคติวิตีของ FSH ทำให้อัตราส่วนของ BA:RIA ในกลุ่มที่เติมเซรั่มลิงเพศผู้เพิ่มขึ้นทั้ง 3 กลุ่ม แต่อย่างไรก็ตาม GnRH มิได้แสดงผลต่อค่าอิมมูโนแอคติวิตีจากการเติมเซรั่มทั้ง 3 ระยะทั้งเพศผู้และเพศเมีย เมื่อเปรียบเทียบกับผลของเซรั่มอย่างเดียว

จากการแยกสเตียรอยด์อิสระและสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำออกจากเซรั่มระยะก่อนวัยรุ่นเพศผู้โดยวิธีไดอะไลซิส นำส่วนไดอะไลเสทและนอน-ไดอะไลเซเบิลที่ปรับให้เป็น 6% ตามเดิม พบว่าส่วนนอน-ไดอะไลเซเบิลมีเทสโทสเตอโรน 153.6 x 10^{-15} M. /เซรั่ม 120 ul สามารถกระตุ้นค่าไบโอแอคติวิตีให้สูงกว่ากลุ่มควบคุม 1.5 เท่า แต่ไม่ทำให้ค่าอิมมูโนแอคติวิตีเปลี่ยนแปลงไปจากกลุ่มควบคุม ส่วนไดอะไลเสทมีเทสโทสเตอโรน 14.4 x 10^{-15} M./ เซรั่ม 120 ul มีผลยับยั้งค่าอิมมูโนแอคติวิตีเล็กน้อยแต่ไม่มีผลต่อค่าไบโอแอคติวิตี ซึ่งตรงกันข้ามกับผลของการใช้เซรั่มระยะก่อนวัยรุ่นที่เพิ่มค่าอิมมูโนแอคติวิตี 2 เท่า แสดงให้เห็นว่าปัจจัยในเซรั่มที่ทำให้ค่าไบโอแอคติวิตีเพิ่มขึ้นไม่อยู่ในส่วนของเซรั่มที่เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่

ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นถึงคุณสมบัติที่แตกต่างกันของเซรั่มลิงแสมในช่วงอายุต่างๆของทั้งสองเพศมีผลต่อรูปแบบของการหลั่ง FSH จากเซลล์ต่อมใต้สมองได้ไม่เหมือนกันในหลอดทดลอง การที่มี GnRH ในเซรั่มของลิงเพศผู้ทุกวัยและลิงเพศเมียระยะโตเต็มวัยสามารถเพิ่มการหลั่งไบโอแอคติวิตีของ FSH จากต่อมใต้สมองได้ อาจมาจากผลของปัจจัยในเซรั่มที่เป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ ซึ่งอาจเป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมนที่จับกับโมเลกุลของโปรตีนและน่าที่จะเป็นไปได้ว่าฮอร์โมน

เพศชายซึ่งอาจเป็นเทสโทสเตอโรนที่จับกับโปรตีนเฉพาะในเซร์ัมมีบทบาทสำคัญต่อการควบคุม การเปลี่ยนแปลงการหลั่งของโมเลกุล FSH ชนิดไบโอแอคทีพในขณะที่ฮอร์โมนเพศอิสระอื่นๆอาจ มีบทบาทสำคัญอย่างอื่นๆ เช่น หน้าที่เพิ่มความไวของเซลล์ต่อมใต้สมองต่อ GnRH ที่ทำให้มีค่า ไบโอแอคติวีตีหลั่งออกมาเพิ่มขึ้นในขณะที่มีค่าอิมมูโนแอคติวีตีต่ำลง ถึงแม้ว่าการทดลองนี้จะไม่ สามารถบ่งชี้ชนิดของสเตียรอยด์หรืออัตราส่วนของสเตียรอยด์ใดที่รับผิดชอบต่อการเปลี่ยนแปลง คุณสมบัติของ FSH ได้ในทุกกรณี แต่การศึกษาค้นคว้าต่อไปน่าจะให้คำตอบเหล่านี้ได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis Title Investigation of Serum Factors in Macaca fascicularis on the Development of Bioactive versus Immunoactive FSH Molecule from Immature Rat Pituitary Cells in vitro.

Name Maj. Thaval Rerksngarm

Thesis Advisor Associate Professor Hansa Asawaroengchai,Ph.D.

Inter-Department Physiology

Academic Year 1986

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ABSTRACT

This investigation was performed to study the effects of serum factors in Macaca fascicularis at 6 percent from three physiological stages; immature(S_1),adolescent(S_2) and adult(S_3) of both male and female. They were tested on rat pituitary cell culture system.Each culture dish contained 10^5 cells in 2 ml. DMEM with 10 % HS and 2.5 % FBS. After 48 HR. preincubation medium was discarded then all treatments were started along with the controls, each in triplicates. Incubation medium was collected every 24 HR. afterward, for the the total of 3 collections namely 2nd, 3rd and 4th culture change.Although bioassay measurment of FSH in the control dishes gave constant amount of about 10 ng/ 10^5 cells throughout the three collections, immunoactivity of this medium was 5.78 $\pm$ 0.36 ng/ 10^5 cells and started to decline in the 3rd and 4th changes, 3.77 $\pm$ 0.15 and 3.28 $\pm$ 0.21 ng/ 10^5 cells accordingly.

Of all the six treatments, sera from the immature monkey of both sexes did not cause any significantly changes in neither BA, 9.93 $\pm$ 0.91 and 10.22 $\pm$ 0.22 VS. 11.15 $\pm$ 0.41 ng/ 10^5 cells, nor RIA activities of FSH compared to the control values, 6.27 $\pm$ 0.67 and 6.71 $\pm$ 0.58 VS. 5.78 $\pm$ 0.36 ng/ 10^5 cells. However BA:RIA ratio from the S_1 female treatment group showed a slight tendency to decrease, 1.54 $\pm$ 0.12 compared to 1.95

$\pm$ 0.07 for the control. Serum S_2 male was the only treatment which gave stimulation effects both on BA, 23.80 $\pm$ 0.71 VS. 11.15 $\pm$ 0.41 ng/ 10^5 cells, and RIA, 9.72 $\pm$ 0.32 VS. 5.78 $\pm$ 0.36 ng/ 10^5 cells of FSH released into the culture medium. BA:RIA ratio of FSH from this treatment was also increased, 2.45 $\pm$ 0.12 compared to 1.95 $\pm$ 0.07 for the control. The S_2 female treatment on the other hand, did not show such BA stimu--lation where the effect on increasing RIA was the same as serum from the male. This resulted in decrease in BA:RIA ratio. Sera from adult monkey of both sexes showed the same effect on stimulating immunoactivity, 7.23 $\pm$ 0.91 and 6.54 $\pm$ 0.29 compared to 5.78 $\pm$ 0.36 ng/ 10^5 cells for the control and did not affect BA-FSH; 12.80 $\pm$ 1.22 and 12.03 $\pm$ 1.09 VS. 11.15 $\pm$ 0.41 ng/ 10^5 cells for the control.

When 10^{-9} M. GnRH was added together with 6 % serum in the 6 treatments as mentioned above, the male sera of all age groups showed increases in BA-activity but not the female except for the S_3 female. This increase in BA-FSH was evidenced in the increase of BA:RIA ratios of the three groups of the male sera. GnRH, however did not exert its effect on RIA-FSH values of all six treatments when compared to the serum effect alone.

Partitioning of the free steroids and all other low molecular substances out of the S_2 male by dialysis was performed. The resulted dialysate and the non-dialysable fraction were reconstituted to the previous 6 % concentration and then tested. It was found that the non--dialysable fraction with testosterone level 153.6 x 10^{-15} M. in 120 ul added, could stimulate the BA-FSH release at 1.5 times higher than the control. The dialysate which had testosterone level at 14.4 x 10^{-15} M. in 120 ul added, however slightly inhibited RIA-FSH release with no effect

on BA-FSH. This is in contrast to the effect of using the whole serum for that the later stimulated 2 times higher in RIA-FSH release from the pituitary cells. It showed that factors in sera which increased BA-activity was in the high molecular weight fraction. The most likely candidate is steroid-bound protein in the non-dialysable fraction.

These findings indicated the different properties of the sera tested in modifying the BA and RIA activities of FSH molecules released by the pituitary cell in vitro. Since each developmental stage of the animal is designated by the differences in its steroids levels in the plasma. Steroid measurments (E_2, P and T_4) revealed that T_4 level in the serum could be responsible for the GnRH sensitization for BA-FSH release since the total T_4 in the sera correlated well with such activity but not the E_2 and P levels. These together with the dialysis experiment, it can be concluded that the bound-form of steroid may play more important role in inceasing the BA-activity of FSH released by the pituitary cells whereas the free from of steroid displays the other functions, the GnRH sensitization for BA-FSH release and the RIA-activity inhibition. Although these experiments could not totally reveal which specific steroid, steroids or their ratios was responsible for the regulation of changes on FSH properties in every case. Further investigation is required to elucidate such question.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้สำเร็จลงโดยผู้วิจัยได้รับความกรุณาช่วยเหลือสนับสนุนจาก รองศาสตราจารย์ ดร.หรรษา อัศวเรืองชัย ซึ่งกรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ให้คำแนะนำชี้แจงแนวทาง เอาใจใส่ ให้กำลังใจและให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ในทุกขั้นตอนของการวิจัย ตลอดจนช่วยตรวจแก้ไขข้อบกพร่องของงานวิจัยจนสำเร็จสมบูรณ์

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดร.อายุส พิชัยชาญณรงค์ ศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว. พุฒิพงศ์ วรวุฒิ และรองศาสตราจารย์ ดร.กนก ภาวสุทธิไพศิฐ ได้กรุณาตรวจแก้ไขจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ รองศาสตราจารย์ ดร.วิทยา ยศยิ่งยวด ที่กรุณาเอื้อเฟื้อสัตว์ทดลองจากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการทำวิจัยและให้คำแนะนำในการทำวิจัยครั้งนี้ และภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้ใช้เครื่องแกมมาเคาน์เตอร์ คุณสมัย ลีพิพัฒน์ไพบูลย์ที่ช่วยแนะนำในการใช้เครื่องดังกล่าว และคุณสถาพร เกิดเกรียงไกร ที่ช่วยเหลือในการทำวิจัย

ผู้วิจัยได้รับความช่วยเหลือและสนับสนุนเป็นอย่างดีจาก พลตรี สุพจน์ สัมปัตตะวนิช ผู้อำนวยการโรงพยาบาลค่ายสุรนารี ครอบครัวผู้วิจัยและคุณอักษรอนงค์ อัครเสนา ที่ช่วยพิมพ์วิทยานิพนธ์ฉบับนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบคุณและขอบคุณทุกท่านมา ณ. โอกาสนี้ด้วยความซาบซึ้งในน้ำใจและสำนึกในพระคุณยิ่ง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ช
กิตติกรรมประกาศ.....ญ
สารบัญ.....ฎ
สารบัญตารางประกอบ.....ฐ
สารบัญรูปประกอบ.....ฒ

บทที่

1. บทนำ.....1
2. สัตว์ทดลอง อุปกรณ์ สารเคมีและการทดลอง.....9
   2.1 สัตว์ทดลอง.....9
   2.2 สารเคมี.....10
      2.2.1 สารเคมีสำหรับเลี้ยงเซลล์ต่อมใต้สมอง.....10
      2.2.2 สารเคมีสำหรับหาระดับ FSH โดยวิธีไบโอเอสเส.....11
      2.2.3 สารเคมีสำหรับหาระดับ FSH โดยวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเส.....13
   2.3 เครื่องมือ.....14
   2.4 วิธีการทดลอง.....15
      2.4.1 สัตว์ทดลอง.....15
      2.4.2 การเก็บเซรั่ม.....16
      2.4.3 สารละลายที่ใช้และวิธีเตรียม.....16
      2.4.4 การแยกเซลล์และการเพาะเลี้ยงเซลล์ต่อมใต้สมอง.....21
      2.4.5 การทดลอง.....22
      2.4.6 การตรวจหาฮอร์โมน FSH ด้วยวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเส.....27
      2.4.7 การตรวจหาฮอร์โมน FSH ด้วยวิธีไบโอเอสเส.....32
3. Validation of assay technique..... 39
   3.1 การประเมินผลการตรวจหาฮอร์โมน FSH ด้วยวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเส....39

บทที่ หน้า

3.2 การประเมินผลการตรวจหาฮอร์โมน FSH ด้วยวิธีไบโอเอสเส.....43

4. ผลการทดลอง.....46

4.1 ผลของเซรั่มลิงแสมระยะต่างๆต่อการหลั่งฮอร์โมนFSH จากเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาว.....46

4.2 ผลของการเติม GnRH 10^{-9} M. ต่อการหลั่งฮอร์โมน FSH จากเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาว.....54

4.3 ผลของเซรั่มลิงแสมระยะต่างๆเมื่อมี GnRH 10^{-9} M. ต่อการหลั่งฮอร์โมน FSH จากเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาว.....54

4.4 ผลของเซรั่มที่ผ่านกระบวนการไดอะไลซิสต่อการหลั่งฮอร์โมน FSH จากเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาว.....64

5. วิจารณ์ผลและสรุป.....71

หนังสืออ้างอิง.....77

ประวัติผู้เขียน.....92

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 วิธีทำเรดิโออิมมูโนเอสเส (RIA)ของฮอร์โมน FSH 30

2 แผนผังการหาปริมาณฮอร์โมน FSH โดยวิธีไบโอเอสเส.....36

3 แสดง % CV ของ intra-assay ในการวัดปริมาณฮอร์โมน FSH ด้วยวิธี RIA.39

4 แสดง % CV ของ inter-assay ในการวัดปริมาณฮอร์โมน FSH ด้วยวิธี RIA.40

5 ความแปรปรวนของปริมาณฮอร์โมน FSH standard ในแต่ละจุดความเข้มข้น ของการหาด้วยวิธี RIA 41

6 แสดง % CV ของ intra-assay ในการวัดปริมาณฮอร์โมน FSH โดยวิธี ไบโอเอสเส.....43

7 แสดงค่าไบโอแอคติวิตี (BA) และอิมมูโนแอคติวิตี (RIA) ของฮอร์โมน FSH ตลอด 72 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยงเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาวกับ เซรั่มลิงแสมระยะต่างๆและอัตราส่วน BA:RIA ของฮอร์โมน FSH 48

8 แสดงค่าไบโอแอคติวิตี (BA) และอิมมูโนแอคติวิตี (RIA)ของฮอร์โมน FSH ตลอดช่วง 72 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง เซลล์ของหนูขาวกับ GnRH 10^{-9} M. และเซรั่มลิงแสมระยะต่างๆและอัตราส่วน BA:RIAของฮอร์โมนFSH .57

9 ผลของส่วนไดอะไลเสทและนอน-ไดอะไลเซเบิลของเซรั่มลิงแสมเพศผู้ระยะ S_2 ต่อการหลั่งฮอร์โมน FSH จากเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาว.....65

10 ระดับของสเตียรอยด์ที่มีอยู่ในเซรั่มลิงแสมเพศผู้และเพศเมียระยะต่างๆที่ใช้ ในการทดลอง.....69

11 ระดับสเตียรอยด์ในเซรั่มลิงแสมระยะต่างๆที่ใส่ในอาหารเลี้ยงเซลล์และ การเปลี่ยนแปลงค่าBA , RIA และอัตราส่วนBA:RIA เมื่อเทียบกับ กลุ่มควบคุม.....71

12 อัตราส่วนของเทสโทสเตอโรนต่ออีสโตรเจน (T/E_2) โปรเจสเตอโรน ต่ออีสโตรเจน (P/E_2) และเทสโทสเตอโรนต่อโปรเจสเตอโรน(T/P) ที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์และการเปลี่ยนแปลงค่า BA,RIA และอัตราส่วน BA:RIA เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม.....72

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

13 การเปลี่ยนแปลงค่าไบโอแอคติวิตี อิมมูโนแอคติวิตีและอัตราส่วนBA:RIA เมื่อเติมเซรั่มและ GnRH เทียบกับการเติมเซรั่มอย่างเดียว.....74

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	แสดงกรดอะมิโนที่ประกอบเป็นแอลฟ่าสับยูนิตของฮอร์โมนไกลโคโปรตีนโดยใช้ LH ของวัวและแกะเป็นตัวอย่าง	2
2	แสดงกรดอะมิโนที่ประกอบเป็นเบต้าสับยูนิตของฮอร์โมนไกลโคโปรตีนโดยใช้ LH ของวัวและแกะเป็นตัวอย่าง	3
3	การทดลองที่ 1 แผนผังแสดงการเติมเซรั่มลิงแสม 6% ที่ระยะต่างๆในการเลี้ยงเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาวเพศผู้อายุ 23-25 วัน	23
4	การทดลองที่ 3 แผนผังแสดงการเติม GnRH 10^{-9} M. และเซรั่มลิงแสม 6% ที่ระยะต่างๆในการเลี้ยงเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาวเพศผู้อายุ 23-25 วัน	25
5	การทดลองที่ 4 แผนผังการทดลองเติมส่วนไดอะไลเสทและนอน-ไดอะไลเสท ของเซรั่มลิงแสมเพศผู้ระยะ S_2 ต่อเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาวอายุ 23-25 วัน	26
6	กราฟของการติดฉลากฮอร์โมน FSH ด้วย ^{125}I	28
7	ตัวอย่างกราฟมาตราฐานของการหาฮอร์โมน FSH ด้วยวิธี RIA จากโปรแกรมของคอมพิวเตอร์	31
8	ค่าเฉลี่ยกราฟมาตราฐานของ BA-FSH	38
9	แสดงกราฟมาตราฐานของการทำ RIA ทั้ง 3 ครั้งเพื่อคำนวณหา %CV	42
10	แสดงกราฟมาตราฐานของการหาฮอร์โมน FSH โดยวิธีไบโอเอสเส	45
11	กราฟแสดงค่าไบโอแอคติวิตี(BA) (——) และอิมมูโนแอคติวิตี (RIA) (- - -) ของฮอร์โมน FSH ของกลุ่มควบคุมในการเติมเซรั่มลิงแสมระยะต่างๆจำนวน 6 กลุ่มในแต่ละครั้งของการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์	47
12	แสดงผลไบโอแอคติวิตี(BA-FSH) (——) และอิมมูโนแอคติวิตี(RIA-FSH) (- - -) ของฮอร์โมน FSH ตลอดช่วง 72 ชั่วโมงในการเพาะเลี้ยงเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาวกับเซรั่มลิงแสมที่ระยะต่างๆ	49
13	แสดงค่าอัตรา ส่วน BA:RIA ของฮอร์โมน FSH เนื่องจากผลของเซรั่มลิงแสมที่ระยะต่างๆ	50

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

14 การเปรียบเทียบปริมาณสะสมของค่าไบโอแอคติวิตี(BA)(——)และอิมมูโน-
-แอคติวิตี(RIA)(– – –)ของฮอร์โมน FSH ตลอดช่วง 72 ชั่วโมงของการ
เพาะเลี้ยงเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาวกับผลของเซรั่มลิงแสมระยะต่างๆ.. 51

15 กราฟแสดงไบโอแอคติวิตี(BA)(┌─┐)และอิมมูโนแอคติวิตี(RIA)(┌ ─ ┐)
ของฮอร์โมน FSH ของกลุ่มควบคุมที่เติม GnRH 10^{-9} M. ในการเติมเซรั่ม
ลิงแสมที่ระยะต่างๆ + GnRH จำนวน 6 กลุ่มในแต่ละครั้งของการเปลี่ยน
อาหารเลี้ยงเซลล์ 55

16 แสดงผลไบโอแอคติวิตี(BA-FSH)(┌──┐)และอิมมูโนแอคติวิตี(RIA-FSH)
(┌ ─ ┐)ของฮอร์โมนFSH ตลอดช่วง 72 ชั่วโมงในการเพาะเลี้ยงเซลล์ต่อม
ใต้สมองของหนูขาวกับ GnRH 10^{-9} M. และเซรั่มลิงแสมที่ระยะต่างๆ....58

17 แสดงค่าอัตราส่วน BA:RIA ของฮอร์โมน FSH เนื่องจากผลของGnRH
10^{-9} M. ร่วมกับเซรั่มลิงแสมระยะต่างๆ 59

18 การเปรียบเทียบปริมาณสะสมของค่าไบโอแอคติวิตี(BA)(——)และอิมมูโน-
-แอคติวิตี(RIA)(– – –)ของฮอร์โมน FSH ตลอดช่วง 72 ชั่วโมงของการ
เพาะเลี้ยงเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาวกับ GnRH 10^{-9} M.และเซรั่มลิงแสม
ระยะต่างๆ 60

19 ผลของส่วนไดอะไลเสทและนอน-ไดอะไลเสทของเซรั่มลิงแสมเพศผู้ระยะ
S_2 ต่อการหลั่งฮอร์โมน FSH ในรูปของค่าไบโอแอคติวิตี(BA-FSH)(┌─┐)
และค่าอิมมูโนแอคติวิตี (RIA-FSH)(┌ ─ ┐) 66

20 แสดงอัตราส่วนBA:RIA ของฮอร์โมน FSH จากผลของไดอะไลเสท
และนอน-ไดอะไลเสทของเซรั่มลิงแสมเพศผู้ระยะ S_2 เมื่อเปรียบเทียบ
กับ กลุ่มควบคุม 67

21 ผลของส่วนไดอะไลเสทและนอน-ไดอะไลเสทของเซรั่มลิงแสมเพศผู้
ระยะ S_2 ต่อปริมาณสะสมของไบโอแอคติวิตี(BA)(——) และอิมมู-
โนแอคติวิตี(RIA)(– – –)ของฮอร์โมน FSH ตลอดช่วง 72 ชั่วโมง
ของการเพาะเลี้ยงเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาว.....68