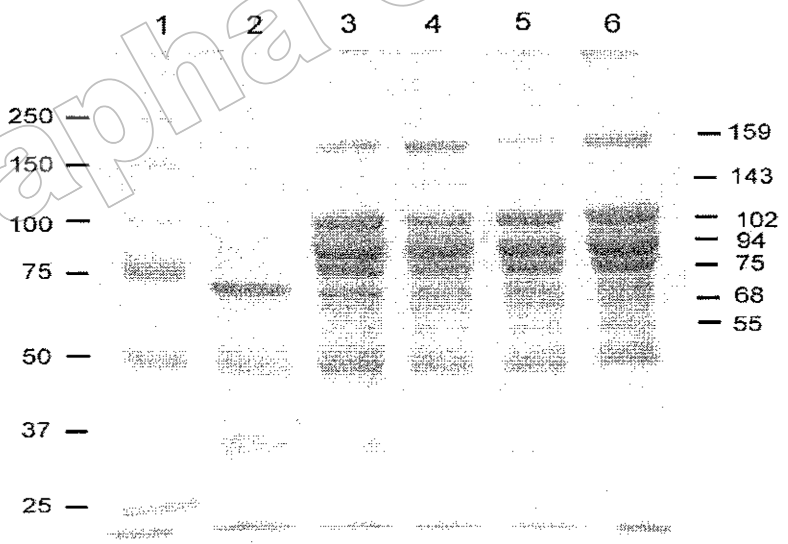
บทที่ 4
ผลการวิจัย

ผลการฉีดกระตุ้นปลากะรังจุดฟ้าโดยใช้ฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออล

เมื่อฉีดฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลเพื่อกระตุ้นให้มีการสร้างไวเทลโลเจนินในปลากะรังจุดฟ้าเพศเมียจำนวน 4 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 3 วัน หลังจากนั้นทำการเก็บเลือดก่อนฉีดแล้วนำมาวัดปริมาณโปรตีนในพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าก่อนและหลังการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออล พบว่า หลังจากฉีดกระตุ้นปริมาณโปรตีนในพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้า มีค่าเพิ่มขึ้น โดยปริมาณโปรตีนในพลาสมาที่สามารถตรวจสอบได้ตั้งแต่ก่อนที่จะมีการฉีดกระตุ้นจนถึงกระตุ้นไปแล้ว 4 ครั้ง มีค่าตั้งแต่ 50.2, 109.9, 112.2, 137.7 และ 266.8 ตามลำดับ และเมื่อนำพลาสมาปลาที่เก็บก่อนและหลังการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนครั้งที่ 1, 2, 3 และ 4 มาแยกโดยใช้เอสดีเอส โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเลคโตรโฟรีซิส ตามวิธีดังข้างต้นที่ได้กล่าวมาแล้ว พบว่า ปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนจะพบแถบโปรตีนมากกว่าปลาที่ไม่ได้รับการฉีดกระตุ้น 7 แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 159, 143, 102, 94, 75, 68 และ 55 kDa ตามลำดับ



ภาพที่ 4 -1 พลาสมาของปลากะรังจุดฟ้า ก่อนและหลังการถูกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออล แยกโดย เอสดีเอสโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซิส

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แถวที่ 1 โปรตีนมาตรฐาน คือ Myosin (250 kDa), B-Galactosidase (150 kDa), Phosphorylase B (100 kD), BSA (75 kDa), Ovalbumin (50 kD), Carbonic Anhydrase (37 kDa) และ Triosephosplate Isomerase (25 kDa)

แถวที่ 2 พลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าก่อนการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออล (มีโปรตีน 5 ไมโครกรัม)

แถวที่ 3 พลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลครั้งที่ 1 (มีโปรตีน 5 ไมโครกรัม)

แถวที่ 4 พลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลครั้งที่ 2 (มีโปรตีน 5 ไมโครกรัม)

แถวที่ 5 พลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลครั้งที่ 3 (มีโปรตีน 5 ไมโครกรัม)

แถวที่ 6 พลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลครั้งที่ 4 (มีโปรตีน 5 ไมโครกรัม)

ผลการเตรียมไวเทลโลเจนินและการทำไวเทลโลเจนินให้บริสุทธิ์

เมื่อนำพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลมาแยกโดยวิธีโครมาโตกราฟีได้ผลการศึกษาดังนี้

1. ผลการแยกโปรตีนจากพลาสมาโดยใช้คอลัมน์ไฮดรอกซิลอะพาไทต์

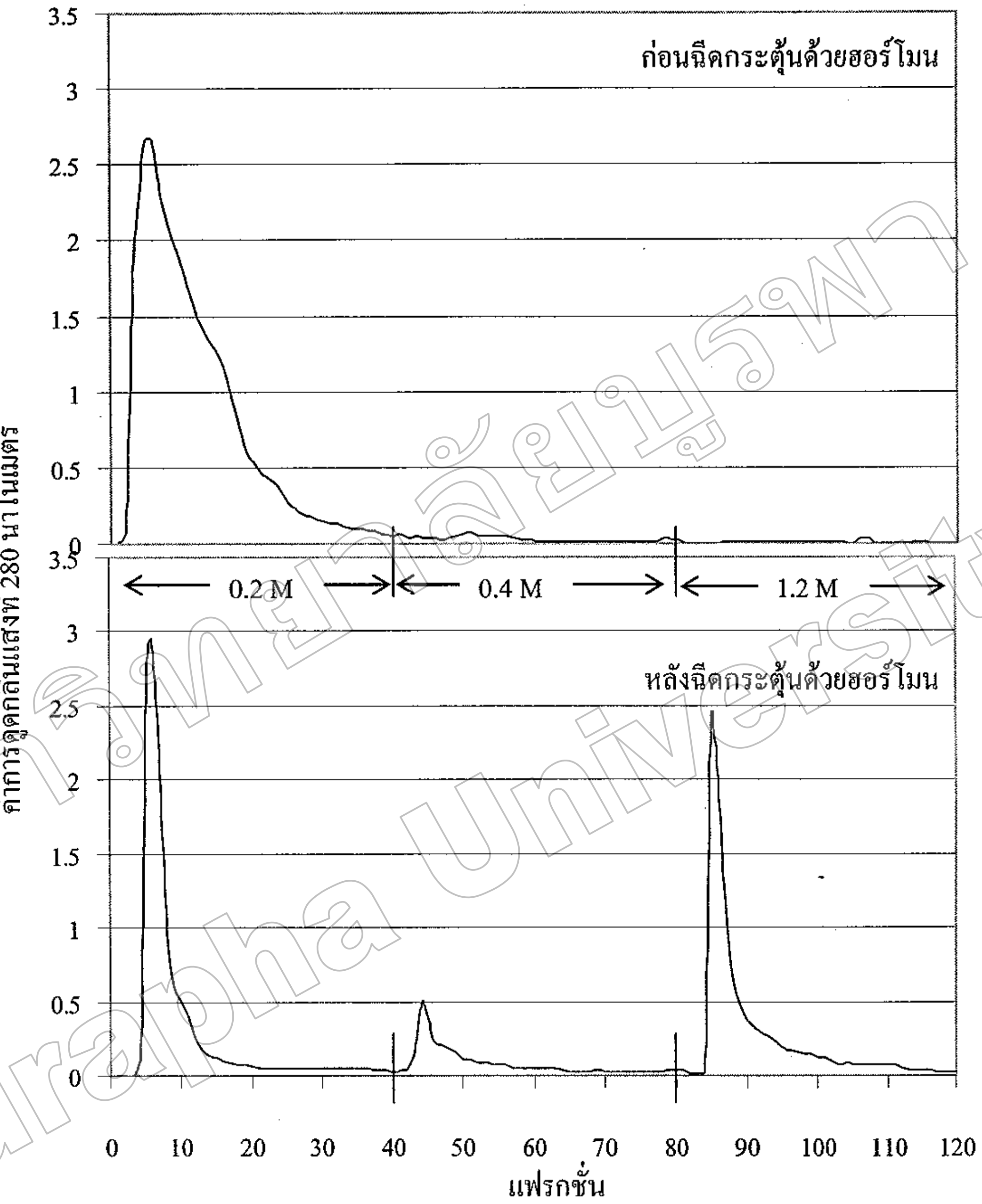
จากการแยกพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าตามวิธีในการเตรียมไวเทลโลเจนินและการทำไวเทลโลเจนินให้บริสุทธิ์ พบว่ามีโปรตีนแยกออกมา 3 พีค โดยพีคที่ 1, พีคที่ 2 และพีคที่ 3 ได้จากการชะด้วยโปตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์, 0.4 โมลาร์ และ 1.2 โมลาร์, พีเอช 6.8 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาของโปรตีนในพลาสมาก่อนและหลังการกระตุ้น พบปริมาณโปรตีนในพีคแตกต่างกันดังภาพที่ 4-2

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4-1 ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ในพลาสมา ก่อนและหลังฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน17 เบต้า-เอสตราไดออล

การเก็บเลือด	โปรตีนใน พลาสมา	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			
		คอลัมน์ไฮดรอกซิลอะพาไทต์			คอลัมน์เซคริล เอส-300
		0.2 โมลาร์ ฟอสเฟต บัฟเฟอร์	0.4 โมลาร์ ฟอสเฟต บัฟเฟอร์	1.2 โมลาร์ ฟอสเฟต บัฟเฟอร์	
ก่อนฉีด	50.2	17.34	-	-	-
เก็บครั้งที่ 1	109.9	5.01	0.22	5.36	4.03
เก็บครั้งที่ 2	112.2	12.56	0.23	6.95	6.53
เก็บครั้งที่ 3	137.7	18.5	2.0	10.91	14.19
เก็บครั้งที่ 4	266.8	99.71	4.82	31.28	2.28

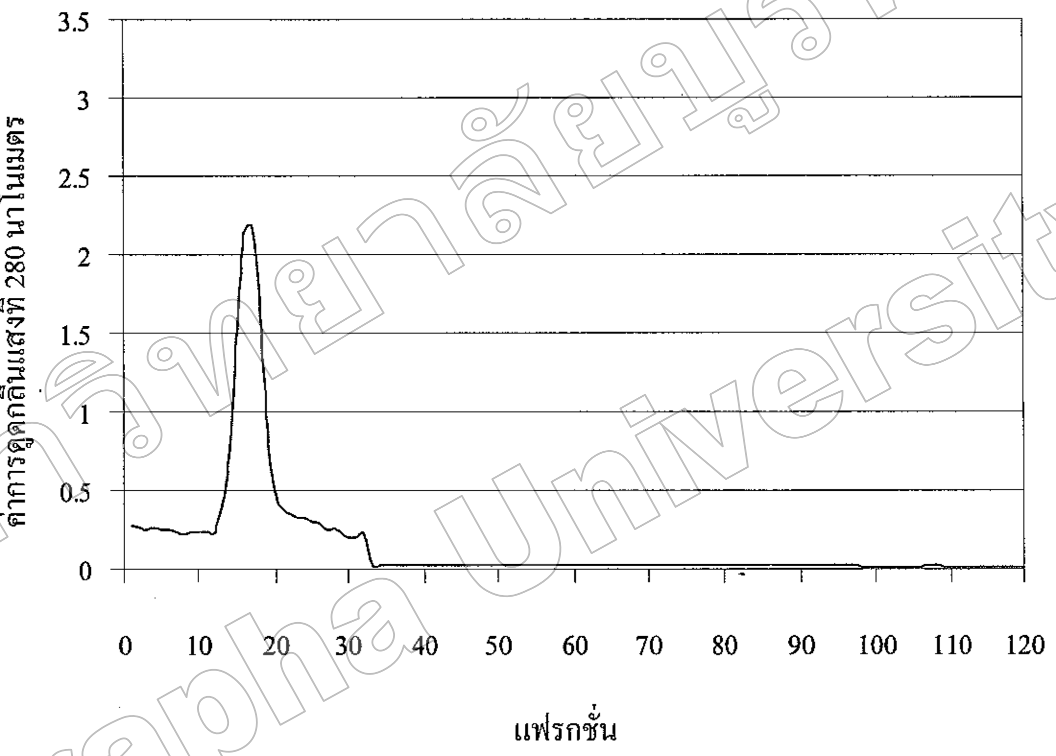
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-2 โครมาโตแกรมแสดงการแยกไวเทลโลเจนินจากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้า ก่อนและหลังจากได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า- เอสตราไดออล นำมาผ่านคอลัมน์ไฮดรอกซิลอะพาไทต์ ชะด้วยโปตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.8 ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์, 0.4 โมลาร์ และ1.2 โมลาร์ ตามลำดับ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที เก็บแฟรกชั่นละ 1.5 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตร

2. ผลการแยกโปรตีนพีคที่ 3 โดยใช้คอลัมน์เซฟาคริลเอส-300

เมื่อนำโปรตีนที่ถูกชะออกมาจากคอลัมน์ไฮดรอกซิลอะพาไทต์ด้วยโปตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1.2 โมลาร์ (พีคที่ 3 จากข้อ 1.) มาทำให้เข้มข้น และผ่านคอลัมน์เซฟาคริลเอส-300 ตามวิธีในการเตรียมไวเทลโลเจนินและการทำไวเทลโลเจนินให้บริสุทธิ์พบว่าแยกโปรตีนได้ 1 พีค ดังภาพที่ 4-3



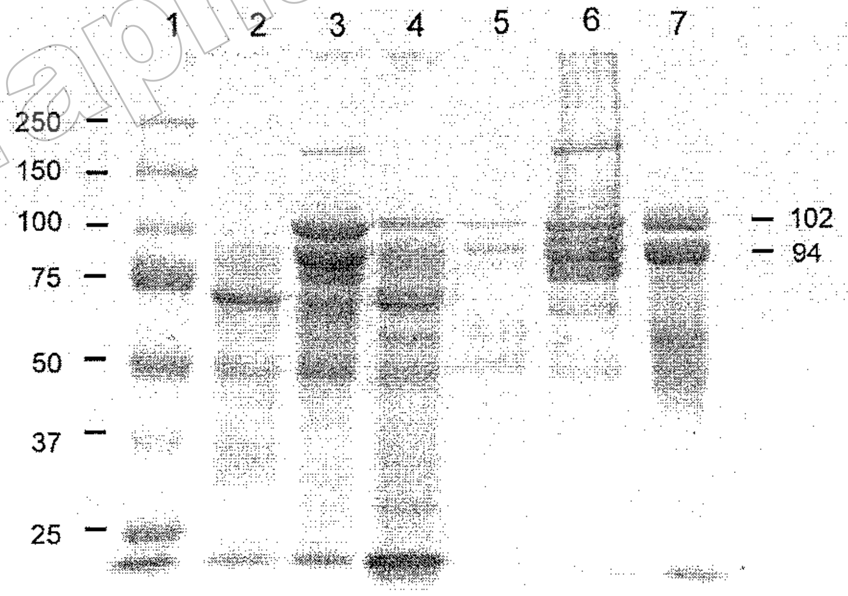
ภาพที่ 4-3 โครมาโตแกรมแสดงการแยกโปรตีน (ไวเทลโลเจนิน) ของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลให้บริสุทธิ์ โดยใช้คอลัมน์เซฟาคริลเอส-300 ชะด้วยทริสบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์, พีเอช 8.0 อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที เก็บแฟรกชั่นละ 1.5 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การศึกษารูปแบบของโปรตีน และการหาน้ำหนักโมเลกุลของไวเทลโลเจนินที่แยกได้จากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าโดยใช้เทคนิคเอสดีเอส โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเลคโตรโฟรีซีส

รูปแบบของโปรตีนในพลาสมาและโปรตีนที่แยกได้จากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าโดยวิธีโครมาโตกราฟีจากการศึกษาพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้า ก่อนและหลังการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน17 เบต้า- เอสตราไดออล และการนำโปรตีนพีคที่ 1 พีคที่ 2 และพีคที่ 3 ที่แยกได้โดยการใช้คอลัมน์ไฮดรอกซิลอะพาไทต์ และการนำโปรตีนพีคที่ 3 (ที่มีไวเทลโลเจนิน) ที่ถูกทำให้บริสุทธิ์ โดยใช้คอลัมน์เซฟาคริลเอส -300 มาแยกโดยวิธีเอสดีเอส โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเลคโตรโฟรีซีส และนำเจลมาย้อมด้วยสี Coomassie Brilliant Blue R-250 พบว่า ปลาหลังจากที่มีการกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออล (ภาพที่ 4-4 แถวที่ 3) จะมีปริมาณโปรตีนเพิ่มมากขึ้นกว่าปลาที่ไม่ได้รับการกระตุ้น (ภาพที่ 4-4 แถวที่ 2)

เมื่อทำการแยกโปรตีนในพลาสมาโดยใช้วิธีโครมาโตกราฟีและใช้คอลัมน์ไฮดรอกซิลอะพาไทต์ พบว่า ในพีคที่ 1 มีแถบโปรตีนหลายแถบ ในพีคที่ 2 มีแถบโปรตีนน้อยกว่าพีคที่ 1 ส่วนพีคที่ 3 มีแถบโปรตีนมากกว่าพีคที่ 2 แต่น้อยกว่าพีคที่ 1 และเมื่อนำโปรตีนพีคที่ 3 มาผ่านคอลัมน์เซฟาคริล เอส -300 จะพบโปรตีนหลักเพียง 2 แถบ แสดงให้เห็นว่าโปรตีนที่แยกได้จะมีความบริสุทธิ์มากขึ้นเมื่อนำมาผ่านคอลัมน์เซฟาคริลเอส-300 และเมื่อนำแถบโปรตีนนี้ไปเปรียบเทียบกับกราฟความสัมพันธ์ระหว่างการเคลื่อนที่กับกับน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐาน พบว่าแถบโปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 102 และ 94 kDa ตามลำดับ



ภาพที่ 4-4 รูปแบบของโปรตีนในพลาสมาและโปรตีนที่แยกได้จากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าโดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แถวที่ 1 โปรตีนมาตรฐาน คือ Myosin (250 kDa), B-Galactosidase (150 kDa), Phosphorylase B (100 kDa), BSA (75 kDa), Ovalbumin (50 kDa), Carbonic Anhydrase (37 kDa), และ Triosephosplate Isomerase (25 kDa)

แถวที่ 2 พลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าก่อนการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออล (มีโปรตีน 5 ไมโครกรัม)

แถวที่ 3 พลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออล (มีโปรตีน 5 ไมโครกรัม)

แถวที่ 4 โปรตีนพีคที่ 1 ที่แยกได้จากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลโดยใช้คอลัมน์ไฮดรอกซิลอะพาไทต์ชะด้วยโปตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 6.8 (มีโปรตีน 5 ไมโครกรัม)

แถวที่ 5 โปรตีนพีคที่ 2 ที่แยกได้จากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลโดยใช้คอลัมน์ไฮดรอกซิลอะพาไทต์ชะด้วยโปตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ พีเอช 6.8 (มีโปรตีน 5 ไมโครกรัม)

แถวที่ 6 โปรตีนพีคที่ 3 ที่แยกได้จากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลโดยใช้คอลัมน์ไฮดรอกซิลอะพาไทต์ ชะด้วยโปตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1.2 โมลาร์ พีเอช 6.8 (มีโปรตีน 5 ไมโครกรัม)

แถวที่ 7 โปรตีนที่แยกได้จากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลโดยใช้คอลัมน์เซฟาคริลเอส-300ชะด้วยทริสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ พีเอช 8.0 (มีโปรตีน 5 ไมโครกรัม)

ผลการผลิตโพลีโคลนอลแอนติบอดีและการตรวจสอบความจำเพาะของแอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวเทลโลเจนินของปลากะรังจุดฟ้า

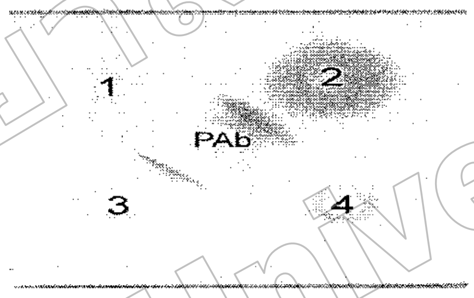
หลังจากที่ทำการฉีดกระตุ้นหนูขาวด้วยแอนติเจนและ Freund' s Adjuvant ในอัตราส่วน 1: 1 เข้าบริเวณช่องท้องของหนูขาวสายพันธุ์ Swiss Albino ICR ทั้งหมด 4 ครั้งและทำการเก็บเลือด มาทดสอบการผลิตแอนติบอดีพบว่าหนูขาวสามารถตอบสนองและสร้างภูมิคุ้มกันที่จำเพาะกับโปรตีนพีคที่ 3 ที่ฉีดเข้าไป ซึ่งการศึกษาถึงความจำเพาะของแอนติบอดีจะใช้เทคนิค Immunodiffusion, Dot Blot และ Western Blot

1. การตรวจสอบความจำเพาะของโพลีโคลนอลแอนติบอดีโดยใช้เทคนิค Immunodiffusion

เมื่อนำโพลีโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้จากหนูขาวมามาทำปฏิกิริยากับโปรตีน (ไวเทลโลเจนิน) ในพลาสมาของปลากะรังเพศเมียก่อนได้รับการฉีดกระตุ้น (หลุมที่ 1) พลาสมา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ของปลากะรังเพศเมียที่ได้รับการฉีดกระตุ้น (หลุมที่ 2) โปรตีนที่ถูกทำให้บริสุทธิ์โดยผ่านคอลัมน์เซฟาคริลเอส-300 (หลุมที่ 3) และพลาสมาของปลากะรังเพศผู้ (หลุมที่ 4) พบว่า โพลีโคลนอลแอนติบอดีจะสามารถทำปฏิกิริยากับพลาสมาของปลากะรังเพศเมียที่ได้รับการกระตุ้น (หลุมที่ 2) เกิดเป็นแนวตะกอนสีน้ำเงินเข้ม 1 แนวระหว่างหลุมตรงกลางกับหลุมที่ 2 และโพลีโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้จะทำปฏิกิริยากับโปรตีน (ไวเทลโลเจนิน) ที่ถูกทำให้บริสุทธิ์โดยผ่านคอลัมน์เซฟาคริลเอส-300 (หลุมที่ 3) เกิดเป็นแนวตะกอนสีน้ำเงินเข้ม 1 แนว ระหว่างหลุมตรงกลางกับหลุมที่ 3 แต่ไม่ทำปฏิกิริยากับพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าเพศเมียที่ไม่ได้รับการกระตุ้น (หลุมที่ 1) และพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าเพศผู้ (หลุมที่ 4) จึงไม่พบแนวตะกอนระหว่างหลุมตรงกลางกับหลุมที่ 1 และ 4 ตามลำดับ



<u>หมายเหตุ</u> หลุมตรงกลาง คือ โพลีโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวเทลโลเจนิน

หลุมที่ 1 คือ พลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าเพศเมียที่ไม่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วย 17 เบต้า-เอสตราไดออล

หลุมที่ 2 คือ พลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าเพศเมียที่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วย 17 เบต้า-เอสตราไดออล

หลุมที่ 3 คือ ไวเทลโลเจนินที่แยกได้โดยคอลัมน์เซฟาคริลเอส-300

หลุมที่ 4 คือ พลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าเพศผู้

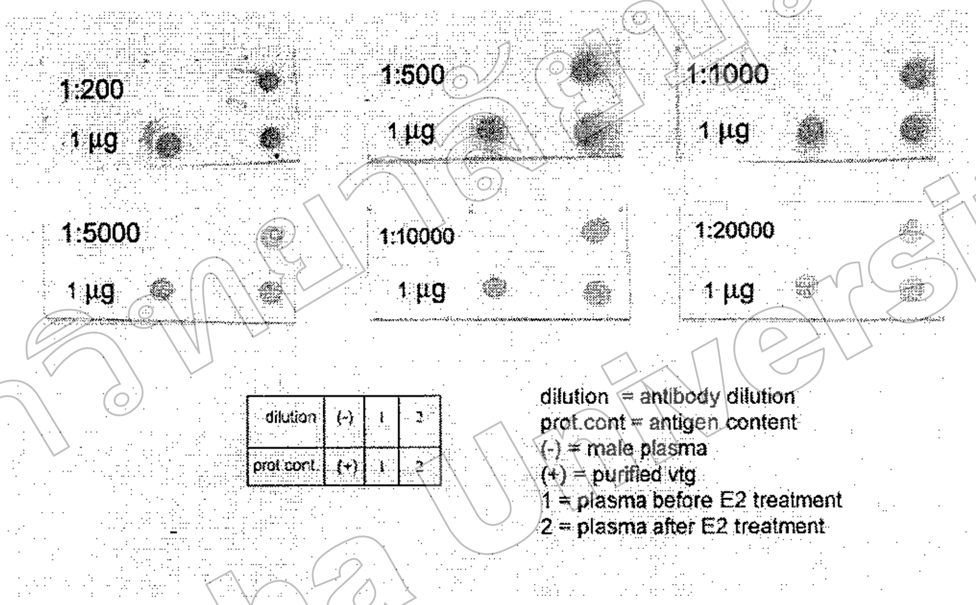
ภาพที่ 4-5 การศึกษาความจำเพาะของโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อไวเทลโลเจนินของปลากะรังจุดฟ้าโดยใช้เทคนิค Immunodiffusion

2. การศึกษาความจำเพาะของโพลีโคลนอลแอนติบอดีและการตรวจหาแอนติบอดีไตเตอร์ (Antibody Titer) โดยใช้เทคนิค Dot Blot

ในการตรวจหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของโพลีโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวเทลโลเจนินที่แยกได้จากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าจะใช้เทคนิค Dot Blot ซึ่งระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบมี 6 ระดับคือ 1: 200, 1: 500, 1: 1,000, 1: 5,000,

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1: 10,000 และ 1: 20,000 จากการศึกษาพบว่า โพลีโคลนอลแอนติบอดีระดับความเข้มข้น 6 ระดับ สามารถทำปฏิกิริยาเกิดเป็นจุดสีน้ำตาลดำกับแอนติเจนที่ใช้ในการศึกษา คือ โปรตีนในพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลและโปรตีนที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์เซฟาคริลเอส -300 ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่เกิดปฏิกิริยากับโปรตีนในพลาสมาของปลาที่ไม่ได้รับการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่ากัน

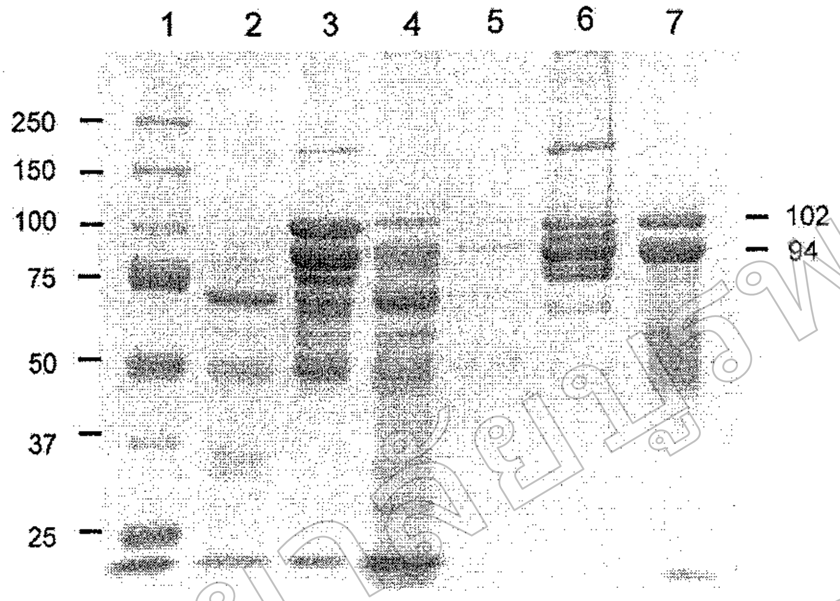


ภาพที่ 4-6 ผลการตรวจหาแอนติบอดีไตเตอร์ (Antibody Titer) โดยใช้ Dot Blot ที่ระดับความเข้มข้น 6 ระดับ

3. ผลการศึกษาความจำเพาะของโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อไวเทลโลเจนินของปลากะรังจุดฟ้าโดยใช้เทคนิค Western Blot

ในการศึกษาความจำเพาะของโพลีโคลนอลแอนติบอดีกับไวเทลโลเจนินของปลากะรังจุดฟ้า โดยใช้เทคนิค Western Blot พบว่า โพลีโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้มีความจำเพาะกับพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าที่ได้รับการกระตุ้นโดยการฉีดฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออล โปรตีนพีคที่ 3 ที่แยกได้โดยคอลัมน์ไฮดรอกซิลอะพาไทต์ และไวเทลโลเจนินบริสุทธิ์เกิดเป็นแถบสีน้ำตาลดำ โดยแถบโปรตีนที่แยกได้จากโปรตีนพีคที่ 3 และไวเทลโลเจนินบริสุทธิ์ที่แยกได้โดยคอลัมน์ เซฟาคริลเอส -300 จะมีลักษณะคล้ายคลึงกัน ไวเทลโลเจนินบริสุทธิ์จะพบแถบโปรตีนทั้งหมด 5 แถบ คือ แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 94, 75, 70, 68 และ 50 kDa ตามลำดับ (ภาพที่ 4-7 แถวที่ 7)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-7 การศึกษาความจำเพาะของโพลีโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนที่แยกได้จากการผ่านคอลัมน์โครมาโตรกราฟีโดยเทคนิค Western Blot

แถวที่ 1 โปรตีนมาตรฐาน คือ Myosin (250 kDa), B-Galactosidase (150 kDa), Phosphorylase B (100 kDa), BSA (75 kDa), Ovalbumin (50 kDa), Carbonic Anhydrase (37 kDa), และ Triosephosplate Isomerase (25 kDa)

แถวที่ 2 พลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าก่อนการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออล (มีโปรตีน 2.5 ไมโครกรัม)

แถวที่ 3 พลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออล (มีโปรตีน 2.5 ไมโครกรัม)

แถวที่ 4 โปรตีนพีคที่ 1 ที่แยกได้จากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลโดยใช้คอลัมน์ไฮดรอกซิลอะพาไทต์ชะด้วยโปตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 6.8 (มีโปรตีน 2.5 ไมโครกรัม)

แถวที่ 5 โปรตีนพีคที่ 2 ที่แยกได้จากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลโดยใช้คอลัมน์ไฮดรอกซิลอะพาไทต์ชะด้วยโปตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ พีเอช 6.8 (มีโปรตีน 2.5 ไมโครกรัม)

แถวที่ 6 โปรตีนพีคที่ 3 ที่แยกได้จากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลโดยใช้คอลัมน์ไฮดรอกซิลอะพาไทต์ ชะด้วยโปตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1.2 โมลาร์ พีเอช 6.8 (มีโปรตีน 2.5 ไมโครกรัม)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แถวที่ 7 โปรตีนที่แยกได้จากพลาสมาของปลากะรังจุดฟ้าหลังจากการฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมน 17 เบต้า-เอสตราไดออลโดยใช้คอลัมน์เซฟาคริลเอส-300ชะด้วยทริสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ พีเอช 8.0 (มีโปรตีน 2.5 ไมโครกรัม)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University