

หัวข้อการวิจัย การเตรียมและศึกษาคุณสมบัติของไมโทครอนเกรียนไรโบโซม
 จากคัมหนู
 การวิจัย วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การสอนเคมี) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2520
 ชื่อผู้ทำ ทรงศักดิ์ เพ็ชรมิตร

บทคัดย่อ

ribosomes ใน mitochondria ของเซลล์ตัวชั้นสูงมีคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพต่างจาก ribosomes ใน cytoplasm ของมันเอง แต่มีคุณสมบัติหลายประการที่คล้ายคลึงกับ ribosomes ใน cytoplasm ของ bacteria หน้าที่ส่วนใหญ่ของ ribosomes ในเซลล์ทุกชนิดก็มีส่วนร่วมในการสังเคราะห์โปรตีนเหมือนกัน เมื่อเป็นเช่นนี้ก็แสดงว่า ribosome ใน mitochondria ของเซลล์ตัวชั้นสูงก็ควรจะมีส่วนคล้ายกับ cytoplasmic ribosomes ของ bacteria ทั้งทางรูปร่างและคุณสมบัติบางอย่างด้วย นั่นคือควรที่จะประกอบด้วย subunits ย่อยเช่นเดียวกัน จุดประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อที่จะเตรียม mitochondria ribosomes ด้วยวิธีง่าย ๆ และศึกษาว่ามันประกอบด้วย 2 subunits จริง โดยใช้วิธี detect ด้วย acrylamide gel electrophoresis พร้อมทั้งหา condition ที่จะทำให้ 2 subunits นั้น หลุดออกจากกันได้ง่าย ๆ โดยเลือกทดลองใน medium ชนิดต่าง ๆ กัน

ในการทดลองครั้งนี้ได้แยก mitochondria จากคัมหนูใน isolation medium ที่ประกอบด้วย 0.34M sucrose - 2mM TRIS pH 7.4 และใช้วิธีล้าง mitochondria หลาย ๆ ครั้งด้วย isolation medium เพื่อขจัด contaminant โดยเฉพาะ cytoplasmic ribosomes และทำลาย membrane ของ mitochondria ด้วย Triton X-100 ซึ่งเป็น non - ionic detergent ที่ผสมกับ medium ชนิดต่าง ๆ แยก matrix ที่รวมอยู่กับ medium ออกจากเศษ

mitochondria แล้วนำมา run electrophoresis on acrylamide gel เพื่อแยก ribosomes และศึกษาคุณสมบัติของการขยายตัว (unfolding) ของ mitochondrial ribosomes พบว่าการทิ้ง Mg^{2+} ion ออกจาก mitochondrial ribosomes ให้เหลือความเข้มข้น ตั้งแต่ $10^{-3}M$ ถึง $10^{-4}M$ จะเกิดการขยายตัว (unfolding) ขึ้น และถ้าละลาย mitochondrial ribosomes ใน medium ที่มี Mg^{2+} ion เพียงชนิดเดียวเป็นองค์ประกอบ และมีความเข้มข้นไม่เกิน 10 mM mitochondrial ribosomes จะขยายตัว (unfold) และแตกตัวเป็น 2 subunits ได้ง่าย ทั้งในกรณีที่ทดลองใน 0.02M EDTA หรือทิ้ง Mg^{2+} ion ออกจาก ribosomes และการทดลองด้วยวิธีทิ้ง Mg^{2+} ion ออกจาก ribosomes ถ้ามี Mg^{2+} ion ต่ำกว่า $10^{-5}M$ ถึง $10^{-6}M$ ขึ้นไป ควรจะควบคุมสภาวะสมดุลของ Mg^{2+} ion ใน system ของการ run electrophoresis ด้วย.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved

Title Preparation and Study of Properties of Mitochondrial
Ribosomes from Rat Liver.

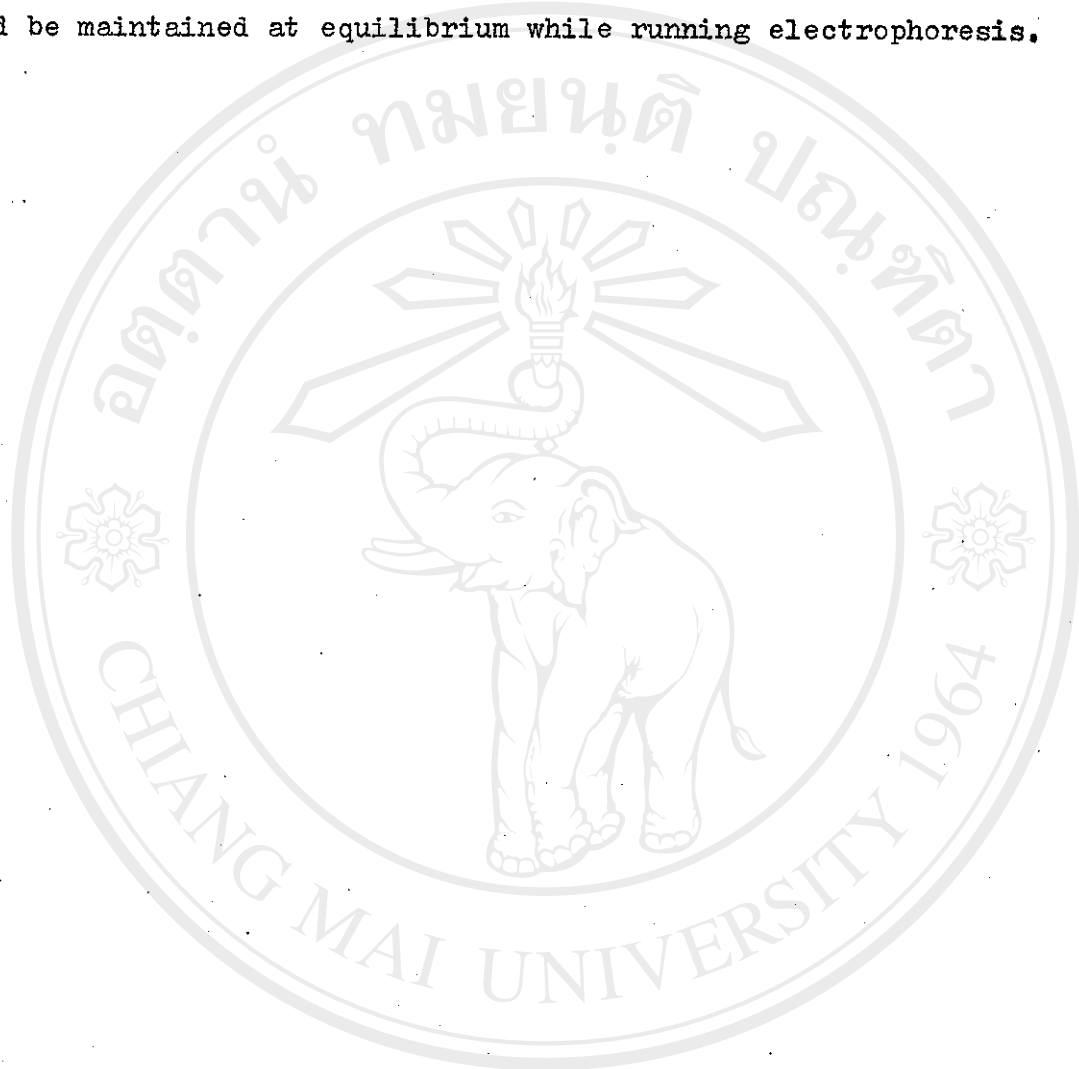
Research Master of Science (Teaching Chemistry).
Chiang Mai University 1977.

Name Songsak Petmitr.

Abstract.

Mitochondrial ribosomes from eukaryotic cells have chemical and physical properties different from cytoplasmic ribosomes, but are similar to bacterial ribosomes. In this experiment, mitochondria were isolated from homogenized rat liver in isolation medium containing 0.34M sucrose - 2mM TRIS pH 7.4. Mitochondria were washed 6 times to eliminate the contaminants and lysed by 20% Triton X-100 in different type of suspension mediums. The damage mitochondria were separated from the mixture by using high speed centrifuge, the supernatant were kept as the samples. To separate the ribosomes and study their properties, the samples were run electrophoresis on 3% acrylamide gel which contained 0.02M EDTA and at different concentration of Mg^{2+} ions ($10^{-2}M$ to $10^{-6}M$). Mitochondrial ribosomes showed the unfolding properties when the Mg^{2+} ions was decreased to 10^{-3} , $10^{-4}M$. The 2 subunits can be fallen apart when the ribosomes sample were suspended in the suspension medium II (0.25M sucrose - 10 mM $MgCl_2$), and performed acrylamide gel electrophoresis containing 0.02M EDTA or $10^{-3}M$ Mg^{2+} ions in reservoir and in sample buffer.

In the same procedure, if the concentrations of Mg^{2+} ions in the reservoir were less than $10^{-5}M$, the Mg^{2+} ions concentration should be maintained at equilibrium while running electrophoresis.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved