ชื่อเรื่องการค้นคว้าแบบอิสระเชิงวิทยานิพนธ์ ผลของไฟโตฮีมแอกกลูตินินที่สกัดจากถั่วแดงหลวง (Phaseolus vulgaris Linn.) ต่อการเติบโตและแบ่งเซลล์ของลิมโฟไซท์ของคนในสภาพที่เลี้ยงนอกร่างกาย

ชื่อผู้เขียน นายภาณุวัฒน์ ตันติเสรีรัตน์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการสอนชีววิทยา

คณะกรรมการตรวจสอบการค้นคว้าแบบอิสระเชิงวิทยานิพนธ์:

ผศ. ปริศนา	จริยวิทยาวัฒน์	ประธานกรรมการ
รศ. นพ. ต่อพงศ์	สงวนเสริมศรี	กรรมการ
อ. ดร. จิระประภา	รังสิยานนท์	กรรมการ

บทคัดย่อ

จากการสกัดถั่วแดงหลวง (Phaseolus vulgaris Linn.) 100 กรัม โดยวิธี saline extraction ได้ crude protein extract ประมาณ 5 กรัม โปรตีนที่ได้เมื่อนำไปตรวจสอบ phytohemagglutinin (PHA) activity กับ cultured blood lymphocyte ศึกษาเมตาเฟสที่เกิดขึ้นพบว่าให้ activity เหมือนกับ PHA ที่ได้จากบริษัท Wellcome และ Gibco นอกจากนี้ crude protein extract ที่ได้เมื่อนำไปศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีโดยวิธี polyacrylamide gel electrophoresis และ gel filtration chromatography พบว่ามี 2 major components คือ PHA1 และ PHA2 ในปริมาณ 1.0448 และ 0.3804 กรัม ต่อ 5 กรัมของ crude protein extract ตามลำดับ เมื่อนำ PHA ที่เตรียมได้จากถั่วแดงหลวงทั้ง crude protein extract, PHA1 และ PHA2 ไปทดสอบการกระตุ้นลิมโฟไซท์เปรียบเทียบกับ PHA ของบริษัท Wellcome และ Gibco ในขนาดความเข้มข้นเท่ากันใน cultured blood lymphocyte พบจำนวนเมตาเฟสที่เกิดขึ้นเท่ากับ 49, 147, 124, 18 และ 16 เมตาเฟสต่อสไลด์ ตามลำดับ และถ้าคิดจากจำนวนเซลล์ลิมโฟไซท์ 1000 เซลล์ พบเมตาเฟสเท่ากับ 12, 35,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

33, 6 และ 5 ตามลำดับ นอกจากนี้ PHA ที่แยกได้โดยเฉพาะ PHA1 และ PHA2 มี activity ของ Leucoagglutinin น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับของ Wellcome, Gibco และ crude protein extract ซึ่งยังมีในปริมาณค่อนข้างสูง

ดังนั้น PHA ที่ใช้เพื่อ cytogenetic analysis สามารถสกัด และแยกได้จากถั่วแดงหลวงตามวิธีดังกล่าวจะให้ผลในการกระตุ้นลิมโฟไซท์ ทำให้เกิดเมตาเฟสดีกว่าที่สั่งซื้อจากต่างประเทศ ปริมาณ PHA1 และ PHA2 ที่เหมาะสมคือ ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ ใช้ 0.1 มิลลิลิตรต่อเลือด 0.12 มิลลิลิตรต่ออาหารเลี้ยงเซลล์ 2 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Research Title Effects of Phytohemagglutinin Extracted from Red Kidney Beans (Phaseolus vulgaris Linn.) on Growth and Division of Human Lymphocytes Cultured in vitro

Author Mr. Panuvat Tontisareerat

M.S. Teaching Biology

Examining Committee :

Assist. Prof. Prisna Chariyavidhayawat Chairman

Assoc. Prof. Dr. Tor-Pong Sanguansermsri Member

Lecturer Dr. Jiraprapa Rungsiyanond Member

Abstract

Extraction of 100 grams of red kidney beans (Phaseolus vulgaris Linn.) by saline extraction yielded 5 grams of crude protein. The phytohemagglutinin (PHA) activity of the extract was then tested against culture blood lymphocytes. The activity observed as cells showing the number of metaphases was found to be similar to that of the PHA obtained from Wellcome and Gibco. Biochemical studies of the crude protein extract by polyacrylamide gel electrophoresis and gel filtration chromatography revealed 2 major components, PHA1 and PHA2 of 1.0448 and 0.3804 grams per 5 grams of the extract respectively. When crude protein extract, PHA1 and PHA2 were tested for lymphocyte activation in comparison with PHA from Wellcome and Giboo of the same concentration in cultured blood lymphocyte, the number of metaphases per slide were 49, 147, 124, 18 and 16 respectively or 12, 35, 33, 6

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

and 5 metaphases per 1000 lymphocytes. Furthermore the activities of Leucoagglutinin from PHA, particularly of PHA1 and PHA2, were very low when compared with those of Wellcome, Gibco and crude protein extract.

Thus, the PHA used in cytogenetic analysis extracted from red kidney beans gave a better metaphase formation in lymphocyte culture than the imported reagent. The optimum concentration of both PHA1 and PHA2 was 1 milligram per millilitre, while 0.1 millilitre per 0.12 millilitre of blood was use for 2 millilitres of cell culture medium.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved