

ฝ่ายวิจัย

รับ วันที่ ๒๒ ต.ค. ๒๕

เวลา ๑๓.๓๐ เลขที่ ๒๕๐๐

๒๕๕

การศึกษาเอ็นไซม์กลูตาเมต ทีไฮโครจีเนส แลคเตท ทีไฮโครจีเนส มาเลท
ทีไฮโครจีเนส และมาลิก เอ็นไซม์ ของ Trichomonas vaginalis



นางสาวเสาวนิต ชานูไชย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต


ศูนย์วิจัยทรัพยากร

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. ๒๕๒๔

๒๕๒๕
๒๕๒๖
๒๕๒๗

The Study of Glutamate Dehydrogenase, Lactate Dehydrogenase,
Malate Dehydrogenase and Malic Enzyme
of Trichomonas vaginalis.



Miss Saowanit Chanchiew

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Department of Zoology
Graduate School
Chulalongkorn University

1981

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาเอ็นไซม์กลูตาเมท ทีไฮโครจีเนส แลคเตท
 ทีไฮโครจีเนส มาเลท ทีไฮโครจีเนส และ มาลิก เอ็นไซม์
 ของ Trichomonas vaginalis
 ผู้ชื่อนิสิต นางสาวเสาวนิต ขาญเขียว
 อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ สดศรี ไทยทอง
 อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม แพทย์หญิงธิดา ลีบลินวงศ์
 ภาควิชา ชีววิทยา
 ปีการศึกษา 2524



บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ในการศึกษาเอ็นไซม์ กลูตาเมท ทีไฮโครจีเนส (GDH) แลคเตท ทีไฮโครจีเนส (LDH) มาเลท ทีไฮโครจีเนส (MDH) และ มาลิก เอ็นไซม์ (ME) ของ Trichomonas vaginalis เพื่อนำผลที่ได้มาพิจารณา ร่วมกับผลการศึกษาเอ็นไซม์ กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส (GPI) โดยสุภาภรณ์ (2522) ในการจำแนกไทป์ของ T. vaginalis ให้ละเอียด และแน่นอนยิ่งขึ้น เนื่องจากเอ็นไซม์สี่ตัวนี้เป็นเอ็นไซม์ที่สำคัญในวิถีไกลโคไลซิส และมีปริมาณมากพอที่จะตรวจพบได้ด้วยวิธีสแตร์ช เจล อีเล็กโทรฟอริซิส โดยเก็บตัวอย่างเชื้อ T. vaginalis จากคนไข้ 50 คน ซึ่งมารับการตรวจรักษาที่โรงพยาบาล บางรัก กรุงเทพมหานคร มาแยกเป็น 200 สายพันธุ์บริสุทธิ์ และอีก 42 สายพันธุ์บริสุทธิ์ จากห้องปฏิบัติการปรสิตวิทยา ภาควิชาชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ผลการศึกษาได้ตรวจพบเฉพาะ GPI₄ และ GPI₈ ซึ่งสุภาภรณ์ ได้ตรวจพบ GPI₁-GPI₇ สำหรับเอ็นไซม์ GDH ตรวจพบ 2 แบบคือ GDH₁, GDH₂ เอ็นไซม์ LDH มี 2 แบบคือ LDH₁, LDH₂ ส่วนรูปแบบของ MDH และ ME เป็นดังนี้ MDH₁, MDH₂, MDH₃ และ ME₁, ME₂, ME₃

จากความแตกต่างในรูปร่างของไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ที่ได้ทำการศึกษาทั้ง
5 ตัว ทำให้สามารถจำแนก T. vaginalis จำนวน 242 สายพันธุ์บริสุทธิ์
ออกเป็น 13 โทป์



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis Title The Study of Glutamate Dehydrogenase, Lactate
Dehydrogenase, Malate Dehydrogenase and Malic
Enzyme of Trichomonas vaginalis.

Name Miss Saowanit Chanchiew

Thesis Advisor Associate Professor Sodsri Thaitong
Dr. Tada Sueblinvong, MD

Department Biology

Academic Year 1981

Abstract

The purpose of study enzymes glutamate dehydrogenase (GDH), lactate dehydrogenase (LDH), malate dehydrogenase (MDH) and malic enzyme (ME) in Trichomonas vaginalis is to coincide with the study of Supaporn (1979) on isozyme patterns of glucose phosphate isomerase (GPI) for the typing of T. vaginalis. These four enzymes are prominently in the glycolytic pathway and can be detected by starch gel electrophoresis. Fifty isolates of T. vaginalis were collected from the patients attending to Bangrak Hospital in Bangkok Metropolitan area. Two hundred clones isolated from these specimens plus another forty two clones from the Parasitology Laboratory, Department of Biology, Chulalongkorn University were used for investigations. It was found only GPI₄ and GPI₈, of which GPI₈ was the additional type to the patterns of GPI₁ - GPI₇ found by Supaporn ; others enzyme patterns found were GDH₁, GDH₂ ;

LDH₁, LDH₂ ; MDH₁, MDH₂, MDH₃ and ME₁, ME₂, ME₃ ,

According to the variation in isozyme patterns obtained in this study, the two hundred and forty two clones of T. vaginalis could then be classified into thirteen type.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



กิติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จเรียบร้อยด้วยความกรุณาของ รองศาสตราจารย์ สดศรี
ไทยทอง อาจารย์ที่ปรึกษา และควบคุมการวิจัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาจารย์แพทย์หญิงธาดา สืบหลินวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ
แก้ไขข้อบกพร่องตั้งแต่แรกเริ่มจนประสบความสำเร็จ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ
อย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย และขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.ม.ร.ว. พุฒิตองศ์
วรวิฑูรี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อารมภ์ รัตมิหัต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่องจนวิทยานิพนธ์
สำเร็จลงด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณสุภาภรณ์ รัตนานุรักษ์พงศ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำเกี่ยวกับ
เทคนิคบางประการที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณศูนย์บริการโลหิต สภากาชาดไทย ที่ได้กรุณาให้ยืมตลอดการ
วิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ฝ่ายชันสูตรและวิจัย โรงพยาบาลบางรัก ที่ได้กรุณา
ช่วยเก็บเชื้อ T. vaginalis

ขอขอบคุณภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้
เชื้อเพื่อสถานที่ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่แผนกโสตทัศนศึกษา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาถ่ายรูปและสไลด์ผลการทดลอง

ขอขอบคุณ คุณศิริลักษณ์ นาคนาย ที่ได้กรุณาช่วยพิมพ์วิทยานิพนธ์จนสำเร็จ
ลงด้วยความเรียบร้อย

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณ ทูการศึกษาพระมหิตลาธิเบศร์ บรมราชาชนก ที่ได้ให้
ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	๔
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	๖
กิตติกรรมประกาศ	๗
รายการตารางประกอบ	๘
รายการแผนภาพประกอบ	๙
รายการรูปภาพประกอบ	๑๑
บทที่	
1. บทนำ	1
2. สอบสวนเอกสาร	8
3. อุปกรณ์ในการทดลอง	18
4. การดำเนินการทดลอง	23
5. ผลการทดลอง	40
6. วิจารณ์	54
7. สรุปผลการทดลอง	61
เอกสารอ้างอิง	62
ประวัติ	70

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการตารางประกอบ

หน้า

ตารางที่ 1	แสดงความถี่ของการพบไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส กลูตาเมต คีไฮโครจีเนส แลกเตท คีไฮโครจีเนส มาเลท คีไฮโครจีเนส และ มาลิก เอ็นไซม์ ใน <u>T. vaginalis</u> จำนวน 242 สายพันธุ์บริสุทธิ์	52
ตารางที่ 2	แสดงการจัดแบ่ง <u>T. vaginalis</u> จำนวน 242 สายพันธุ์บริสุทธิ์ ออกเป็น 13 ทัพ โดยอาศัยแบบของ ไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส กลูตาเมต คีไฮโครจีเนส แลกเตท คีไฮโครจีเนส มาเลท คีไฮโครจีเนส และ มาลิก เอ็นไซม์	53

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการแผนภาพประกอบ

	หน้า
แผนภาพที่ 1	แสดงโครงสร้างและองค์ประกอบภายในของ <u>Trichomonas vaginalis</u> 10
แผนภาพที่ 2	แสดงไอโซไซม์ 7 แบบ ที่พบจากการศึกษาเอ็นไซม์ กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส โดยวิธีสแตร์ชเจด อีเล็กโทรโฟเรซิส 17
แผนภาพที่ 3	แสดงการจัดตั้งเครื่องมือสำหรับอีเล็กโทรโฟเรซิส 20
แผนภาพที่ 4	แสดงวิถีการวิ่งของเอ็นไซม์ในสแตร์ชเจด 32
แผนภาพที่ 5	แสดงวิธีผ่านเจด 32
แผนภาพที่ 6	แสดงการเกิดฟอร์มาซาน โดยปฏิกิริยารีดอกซ์ของ MTT 33
แผนภาพที่ 7	แสดงการเกิดฟอร์มาซานบนแผ่นเจดของเอ็นไซม์ กลูตาเมท ดีไฮโดรจีเนส 34
แผนภาพที่ 8	แสดงการเกิดฟอร์มาซานบนแผ่นเจดโดยเอ็นไซม์ แลคเคท ดีไฮโดรจีเนส 35
แผนภาพที่ 9	แสดงการเกิดฟอร์มาซานบนแผ่นเจดโดยเอ็นไซม์ มาเลท ดีไฮโดรจีเนส 36
แผนภาพที่ 10	แสดงการเกิดฟอร์มาซานบนแผ่นเจดโดย มาลิก เอ็นไซม์ 37
แผนภาพที่ 11	แสดงการเรียงตัวของกลุ่มไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส กลูตาเมท ดีไฮโดรจีเนส แลคเคท ดีไฮโดรจีเนส มาเลท ดีไฮโดรจีเนส และ มาลิก เอ็นไซม์ ที่พบใน <u>T. vaginalis</u> จำนวน 242 สายพันธุ์บริสุทธิ์ 48

แผนภาพที่ 12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ แลกเทท
ทีไฮโคโรจิเนส และ มาเลท ทีไฮโคโรจิเนส ที่พบใน
T. vaginalis จำนวน 242 สายพันธุ์วิสุทธิ์ 57



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการรูปภาพประกอบ

		หน้า
รูปที่ 1	แสดงภาพถ่ายของ <u>Trichomonas vaginalis</u>	11
รูปที่ 2	แสดงภาพถ่ายของกลุ่มไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ กลูตาเมท ดีไฮโดรจีเนส แบบที่หนึ่ง และแบบที่สอง	49
รูปที่ 3	แสดงภาพถ่ายของกลุ่มไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ แลคเตท ดีไฮโดรจีเนส แบบที่หนึ่ง และแบบที่สอง	49
รูปที่ 4	แสดงภาพถ่ายของกลุ่มไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ มาเลท ดีไฮโดรจีเนส แบบที่หนึ่ง แบบที่สอง และแบบที่สาม ...	50
รูปที่ 5	แสดงภาพถ่ายของกลุ่มไอโซไซม์ของมาติก เอ็นไซม์ แบบที่หนึ่ง แบบที่สอง และแบบที่สาม	50
รูปที่ 6	แสดงภาพถ่ายของกลุ่มไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส แบบที่สี่ และแบบที่แปด	51

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย