

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
อักษรย่อและสัญลักษณ์	ฏ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
โคเลสเตอรอล	3
การสังเคราะห์โคเลสเตอรอล	4
ไลโปโปรตีน	7
ผลของโคเลสเตอรอลต่อคนและสัตว์	8
การขนย้าย โภชนะจากกระแสเลือด ไปยัง ไข่	11
วิธีการวัดโคเลสเตอรอล	15
เทคนิคเอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนท์แอสเซ	15
การผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดี	20
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	23
สัตว์ทดลอง	26
การเตรียมแอนติเจนและกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อโคเลสเตอรอล	26
การผลิต โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอล	29
การวัดใช้วิธี ELISA ในการวัดปริมาณ โคเลสเตอรอล	38
การสกัด โคเลสเตอรอลจากไข่แดง	42
การวัดใช้วิธี Zak (1957) ในการวัดปริมาณ โคเลสเตอรอล	43
บทที่ 4 ผลการทดลอง	46
บทที่ 5 วิจัยรณัผล และสรุปลผลการทดลอง	60
วิจัยรณัผลการทดลอง	60

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
สรุปผลการทดลอง	66
ข้อเสนอแนะ	67
เอกสารอ้างอิง	68
ภาคผนวก	75
ประวัติการศึกษา	80

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1. คุณสมบัติของไลโปโปรตีน	7
2. แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่492นาโนเมตรของอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ผลิตแอนติบอดี	49
3. แสดงค่าการดูดกลืนแสงจากการตรวจวัดแอนติบอดีของเซลล์ไฮบริโดมา หลังจากทำ limiting dilution	50
4. แสดงผลการวัดปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่แดงของนกกระทาด้วยวิธี ELISA และวิธีคัดเลือกรีเมตริกของ Zak (1957)	55

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2-1. โครงสร้างโคเลสเตอรอล.	3
2-2. การสังเคราะห์โคเลสเตอรอล.	5
2-3. ขั้นตอนการหลั่งฮอร์โมนในการตกไข่	12
2-4. ขั้นตอนการส่งผ่านโคเลสเตอรอล	14
2-5. วิธีการ Indirect ELISA method	17
2-6. วิธีการ Sandwich ELISA method	18
2-7. วิธีการ Competitive ELISA method.	19
2-8. ขั้นตอนการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดี	22
3-1. ขั้นตอนการเชื่อมโคเลสเตอรอลกับ โบวาย ซีรัม อัลบูมิน	26
3-2. การเตรียมแอนติเจนสำหรับกระตุ้น โดยวิธี homogenization	27
3-3. การฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อโคเลสเตอรอลในหนู Balb/c	27
3-4. ขั้นตอนการทำ Indirect ELISA เพื่อตรวจสอบการผลิตแอนติบอดี	28
3-5. เซลล์ไมอีโลมาที่กำลังขยาย 60 เท่า	29
3-6. การฉีด IMDM เข้าช่องท้องเพื่อเตรียม feeder cell.	30
3-7. การเก็บเซลล์ม้าม	31
3-8. เซลล์ม้ามที่กำลังขยาย 60 เท่า	31
3-9. การหลอมเซลล์ม้ามและเซลล์ไมอีโลมาที่กำลังขยาย 150 เท่า	32
3-10. ขั้นตอนการหลอมเซลล์ม้ามและเซลล์ไมอีโลมา	33
3-11. ขั้นตอนการตกตะกอนแยก Ig จากน้ำเลี้ยงเซลล์จากช่องท้องหนู	36
3-12. ขั้นตอนการทำให้ Ig G บริสุทธิ์ด้วย column chromatography	37
3-13. ขั้นตอนการหากราฟมาตรฐานของโคเลสเตอรอลด้วยวิธี ELISA	39
3-14. ขั้นตอนการสกัดโคเลสเตอรอลจากไข่แดง	42
3-15. ขั้นตอนการหากราฟมาตรฐานของโคเลสเตอรอลด้วยวิธี Zak (1957)	44
3-16. ขั้นตอนการวัดโคเลสเตอรอลด้วยวิธี Zak (1957)	45

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-1. ผลการฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อโคเลสเตอรอลในหนูขาว	46
4-2. โคลนที่เกิดขึ้นหลังการหลอมเซลล์ม้ามและเซลล์ไมอีโลมากำลังขยาย 30 เท่า	47
4-3. แผนภูมิแสดงจำนวน โคลนที่เกิดขึ้นหลังการหลอมเซลล์ม้ามและเซลล์ไมอีโลมา	48
4-4. แผนภูมิแสดงจำนวน โคลนที่ผลิตแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอล	48
4-5. กราฟเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงระหว่าง Ig G และ Ig M	51
4-6. กราฟแสดงอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเจือจาง โมโนโคลนอลแอนติบอดี	52
4-7. กราฟมาตรฐาน โคเลสเตอรอลวิธี ELISA	53
4-8. กราฟแสดงปฏิกิริยา cross reaction ระหว่าง โมโนโคลนอลแอนติบอดี และโปรเจสเทอโรน	55
4-9. กราฟแสดงปฏิกิริยา cross reaction ระหว่าง โมโนโคลนอลแอนติบอดี และฮีสตราโคออล	55
4-10. กราฟมาตรฐานของโคเลสเตอรอล โดยวิธี Zak (1957)	56
4-11. กราฟแสดงค่าความสัมพันธ์ของวิธีการ ELISA และวิธี Zak (1957)	57

อักษรย่อและสัญลักษณ์

°ซ	องศาเซลเซียส
ก.	กรัม
คล.	เดซิลิตร
มก.	มิลลิกรัม
มล.	มิลลิลิตร
%	Percent
A ₄₉₂	Absorbance at 492 nanometer
A ₅₆₀	Absorbance at 560 nanometer
ACAT	Acyl-Co A: Cholesterol Acyl Transferase
Acetyl Co A	Acetyl coenzyme A
Apo	Apolipoprotein
BSA	Bovine serum albumin
ELISA	Enzyme-linked immunosorbant assay
FCA	Freund's complete adjuvant
FCS	Fetal Calf Serum
FH	Familial Hypercholesterolemia
FSH	Follicle Stimulating Hormone
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
H ₂ O ₂	Hydrogenperoxide
HMG Co A	Hydroxymethylglutaryl coenzyme A
IDL	Intermediate density lipoprotein
IMDM	Iscoe's Modified Dulbecco's Medium
LCAT	Lecithin cholesterol acyl transferase
LH	Luteinizing Hormone
LUV	Large unilamellar vesicle
LDL	Low density lipoprotein
LPL	Lipoproteinlipase

LPS	Lipopolysaccharide
OD	Optical density
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
OPD	Otho-phenylenediamine acetate
PBS	Phosphate buffered saline
RZ	Reinheitszahl value
RIA	Radioimmunoassay
SUV	Small unilamellar vesicle
VLDL	Very low density lipoprotein

มหาวิทยาลัย
Chiang Mai University