Thesis Tittle	Effect of Plant Trypsin Inhibitor on Acrosin Activity of Bovine Spermatozoa
Author	Mr.Wichai Sermboonsuk
M.Sc.	Biochemistry
Examining Committee	Assoc.Prof.Dr.Viboon Rattanapanone — Chairman
	Assist.Prof.Dr.Vichai Wongchai — Member
	Assist.Prof.Wiwat Wangpreedalertkul — Member
	Lecturer. Dr. Umnat Mevatee — Member
	Lecturer. Nirandon Potikanond — Member

Abstract

The trypsin inhibitory activity of local vegetables and soybean were determined by using BApNA as substrate. The inhibitory activities were shown in the order of soybean > lead-tree > hyacinth bean > cabbage > egg plant > winged bean > common mushroom > yard long bean >garden pea.

The acrosin activity of spermatozoa was measured by using gelatin film (Gelatinolysis method). It was found that the halo diameter of rabbit acrosin was 45.9 $\pm$ 7.3 µm, bull acrosin was 31.1 $\pm$ 5.8 µm and human acrosin was 10.5 $\pm$ 2.4 µm. The spermatozoa of oligospermia subject could show halo size formation the same as normospermia subject.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

The trypsin inhibitor of raw vegetable extracts were tested for their acrosin inhibitory activities on rabbit, bull and human spermatozoa by using gelatinolysis method. All of these trypsin inhibitors could inhibit acrosin of three mammalian spermatozoa. Soybean trypsin inhibitor showed the highest acrosin inhibitory activity. The acrosin inhibitory activity compared to the soybean trypsin inhibitor was shown in the following order

1. Human spermatozoa : egg plant > common mushroom > yard long bean> garden pea > cabbage > lead-tree > hyacinth bean > winged bean.

2. Bull spermatozoa : lead-tree > egg plant > yard long bean > common mushroom > cabbage > garden pea > hyacinth bean > winged bean.

3. Rabbit spermatozoa : lead-tree > egg plant > yard long bean > hyacinth bean > winged bean > common mushroom > garden pea > cabbage.

The extract of trypsin inhibitors had higher effect on rabbit and bull acrosin than human acrosin. The partial purified trypsin inhibitor from soybean, lead-tree and common mushroom were tested for their effects on purified bull acrosin by using BApNA as substrate. The inhibitory activity of soybean trypsin inhibitor had two folds higher than lead-tree and ten folds higher than common mushroom.

The gelatinolysis method was used for testing the acrosin activity of Y-spermatozoa that separated by bovine serum albumin

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

medium. The Y-spermatozoa after separation was 43.5 $\pm$ 5.3 % and significantly difference from before separation (31.5 $\pm$ 4.5 %) with $p < 0.10$. The halo diameter of spermatozoa were not changed between before (7.3 $\pm$ 1.5 um) and after separation (7.5 $\pm$ 0.2 um) with $p < 0.10$. It was also found that the spermatozoa with adding soybean trypsin inhibitor, before separation were 4.9 $\pm$ 0.5 um and after separation were 5.1 $\pm$ 0.2 um. They were not difference statistically significant ($p < 0.10$).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของสารยับยั้งทริพซินจากพืชต่อการทำงานของอะโครซินของตัวอสุจิจากวัว

ชื่อผู้เขียน นายวิชัย เสริมบุญสุข

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ชีวเคมี

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

รศ.ดร.วิบูลย์	รัตนาปนนท์	ประธานกรรมการ
ผศ.ดร.วิชัย	วงศ์ไชย	กรรมการ
ผศ.วิวัฒน์	หวังปรีดาเลิศกุล	กรรมการ
อจ.ดร.อำนาจ	มีเวที	กรรมการ
อจ.นิรันดร	โพธิกานนท์	กรรมการ

บทคัดย่อ

วัดการทำงานของสารยับยั้งทริพซินจากผักสดในท้องถิ่นและถั่วเหลืองโดยใช้ BApNA เป็นสับสเตรท พบว่าระดับในการยับยั้งทริพซินมีค่าแตกต่างกันโดยเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยได้ดังนี้ ถั่วเหลือง > กระถิน > ถั่วแปบ > กล่ำปลี > มะเขือ > ถั่วพู > เห็ดฟาง > ถั่วฝักยาว > ถั่วลันเตา

วัดการทำงานของอะโครซินโดยใช้เจลลาตินฟิล์ม (Gelatinolysis method) พบว่าอะโครซิน จากกระต่ายทำให้เกิด Halo diameter เป็น 45.9 $\pm$ 7.3 ไมโครเมตร จากวัวเป็น 31.1 $\pm$ 5.8 ไมโครเมตร และจากคนเป็น 10.5 $\pm$ 2.4 ไมโครเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ได้นำตัวอสุจิจากคนที่มีตัวอสุจิน้อยกว่าค่าปกติ (Oligospermia) มาตรวจการทำงานของอะโครซินพบว่าตัวอสุจิจากคนที่เป็น oligospermia สามารถเกิด Halo diamter ได้ เช่นเดียวกับคนปกติ (normospermia).

นำสารยับยั้งทริพซินที่สกัดได้จากผักสดมาทดสอบกับอะโครซินจากกระต่าย, วัว และคน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

พบว่า ถั่วเหลืองจะมีค่าการยับยั้งอะโครซินสูงที่สุด ค่าความสัมพันธ์ของการยับยั้งอะโครซินจากสารยับยั้งทริพซินของผักสดเมื่อเทียบกับสารยับยั้งทริพซินจากถั่วเหลืองสามารถเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยได้ดังนี้

1. คน : มะเขือ > เห็ดฟาง > ถั่วฝักยาว > ถั่วลันเตา > กล่ำปลี > กระถิน > ถั่วแปบ > ถั่วพู

2. วัว : กระถิน > มะเขือ > ถั่วฝักยาว > เห็ดฟาง > กล่ำปลี > ถั่วลันเตา > ถั่วแปบ > ถั่วพู

3. กระต่าย : กระถิน > มะเขือ > ถั่วฝักยาว > ถั่วแปบ > ถั่วพู > เห็ดฟาง > ถั่วลันเตา > กล่ำปลี

นอกจากนี้พบว่า สารยับยั้งทริพซินจากผักสดสามารถยังยั้งอะโครซินจากกระต่ายและวัวได้มากกว่าคน

นำสารยับยั้งทริพซินจากถั่วเหลือง, กระถิน และเห็ดฟางมาทำให้บริสุทธิยิ่งขึ้น แล้วนำมาทดสอบกับอะโครซินที่สกัดมาจากตัวอสุจิวัว ซึ่งทำให้บริสุทธิยิ่งขึ้นเช่นกัน และใช้ BApNA เป็นสับสเตรท พบว่า สารยับยั้งทริพซินจากถั่วเหลืองจะมีค่าการยับยั้งอะโครซินได้มากกว่าสารยับยั้งจากกระถินเป็น 2 เท่า และมากกว่าเห็ดฟางเป็น 10 เท่า

นำเจลลาตินฟิล์มมาตรวจหาการทำงานของอะโครซินของตัวอสุจิชนิด Y จากคน ซึ่งได้รับการแยกด้วยสารละลาย Bovine serum albumin (BSA). พบว่า สารละลาย BSA 15 เปอร์เซ็นต์สามารถแยกตัวอสุจิชนิด Y ได้ 43.5 $\pm$ 5.3 % เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอสุจิชนิด Y ก่อนแยกมี 31.5 $\pm$ 4.5 % อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.10$) นำตัวอสุจิที่ได้รับการแยกด้วยสารละลาย BSA นั้นมาวัดการทำงานของอะโครซินโดยใช้เจลลาตินฟิล์ม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.10$) ระหว่าง Halo diameter ที่เกิดจากตัวอสุจิที่แยกด้วยสารละลาย BSA กับตัวอสุจิที่ไม่ได้รับการแยก

เมื่อใส่สารยับยั้งทริพซินจากถั่วเหลืองลงในตัวอสุจิที่ไม่ได้รับการแยก พบว่ามี Halo diameter เป็น 4.9 $\pm$ 0.5 ไมโครเมตร และตัวอสุจิหลังจากแยกด้วยสารละลาย BSA เป็น 5.1 $\pm$ 0.2 ไมโครเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.10$).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved