ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาคุณสมบัติของเลคตินที่จำเพาะต่อกรดไซอะลิคในฮีโมลิมฟ์ของกุ้งแชบ๊วย
ผู้เขียน นางสาววนิดา ฤทธิเดช
สาขาวิชา ชีวเคมี
ปีการศึกษา 2549

บทคัดย่อ

เลคตินเป็นโปรตีนซึ่งจับกับคาร์โบไฮเดรทและทำให้เซลล์เกาะกลุ่มและ/หรือทำให้สารประกอบคาร์โบไฮเดรตตกตะกอนได้ เลคตินในฮีโมลิมฟ์ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังเกี่ยวข้องกับกลไกการจดจำเซลล์แปลกปลอม มีรายงานการศึกษาเลคตินในครัสเตเชียนที่เกี่ยวกับการทำให้บริสุทธิ์และศึกษาคุณสมบัติของเลคติน รวมทั้งมีการศึกษาบทบาทต่างๆของเลคตินในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง แต่ยังไม่สามารถระบุบทบาทที่จำเพาะของเลคตินได้ กุ้งแชบ๊วยเป็นกุ้งกลุ่มพีเนียดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมาก จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษากลไกการป้องกันตนเองของเลคตินในกุ้งแชบ๊วยเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงต่อไป จากการแยกคตินจากฮีโมลิมฟ์ของกุ้งแชบ๊วยโดยโครมาโทกราฟีแบบจำเพาะด้วยคอลัมน์ Fetuin-agarose พบว่ามีค่าความจำเพาะในการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นเป็น 1,062 เท่าของซีรัมเริ่มต้น การทำให้เลคตินบริสุทธิ์ต่อโดยโดยโครมาโทกราฟีแบบเจลฟิลเทรชันด้วยคอลัมน์ Superose 12 HR หรือโดยวิธีโพลีอะคริลาไมล์เจล อิเล็กโทรฟอรีซิสแบบเตรียมทำให้ค่าความจำเพาะในการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นเป็น 1,850 เท่าของซีรัมเริ่มต้น เลคตินบริสุทธิ์มีมวลโมเลกุล 316,200 ดัลตัน เมื่อหาโดยวิธีเจลฟิลเทรชันและแสดงโปรตีน 2 แถบ (32,300 และ 30,900 ดัลตัน)ในโพลีอะคริลาไมล์เจลอิเล็กโทรฟอรีซิสแบบมีเอสดีเอส เลคตินบริสุทธิ์มีองค์ประกอบกรดอะมิโนและค่า pI ใกล้เคียงกับเลคตินของกุ้งชนิดอื่น เลคตินบริสุทธิ์ของกุ้งแชบ๊วยเป็นโปรตีนที่มีการเติมน้ำตาลที่ตำแหน่งเอ็น ซึ่งประกอบด้วยกรดเอ็น-อะซิติลนิวรามินิคแมนโนส กลูโคสและกลูโคซามีน เลคตินบริสุทธิ์เลือกเกาะกลุ่มแบคทีเรียก่อโรคกุ้ง *Vibrio harveyi* และ *V. parahemolyticus* รวมทั้งทำให้ *V. vulnificus* เกาะกลุ่มได้แต่น้อยกว่า แต่ไม่ทำให้แบคทีเรียไม่ก่อโรคกุ้ง คือ *V. cholerae Samonella typhi* และ *Escherichia coli* เกาะกลุ่ม ความจำเพาะในการเกาะกลุ่ม *V.harveyi* ของเลคตินบริสุทธิ์ถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ได้โดยกรดเอ็นอะซิติลนิวรามินิค มิวซิน ฟิทูอินและแอนติบอดีต่อเลคตินบริสุทธิ์ แอนติบอดีต่อเลคตินที่

ได้จากการสังเคราะห์ในกระต่ายแสดงความจำเพาะสูงต่อเลคตินบริสุทธิ์และเลคตินในฮีโมลิมฟ์ซึ่งวิเคราะห์โดยวิธี dot blot และ Western blot แอนติบอดีนี้ยังสามารถทำปฏิกิริยากับเลคตินใน
ฮีโมลิมฟ์ของกุ้งกุลาดำ *(Penaeus monodon)* และกุ้งขาว *(Penaeus vannamei)* แอนติบอดีดังกล่าวถูกนำไปพัฒนาวิธี enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) ทั้ง ELISA และการวัดความสามารถในการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงถูกนำไปใช้ในการหาปริมาณเลคตินในฮีโม -
ลิมฟ์เปรียบเทียบกัน หลังจากการกระตุ้นกุ้งแชบ๊วยด้วยการฉีดเชื้อ *V. harveyi* พบว่าปริมาณ เลคตินจำเพาะในฮีโมลิมฟ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญจากชั่วโมงที่ 0 เป็นชั่วโมงที่ 6 และเพิ่มสูงสุดในชั่วโมงที่ 12 หลังการฉีดในทำนองเดียวกัน ความจำเพาะในการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงในฮีโมลิมฟ์ของกุ้งที่ฉีดเชื้อมีค่าเพิ่มขึ้นในลักษณะเดียวกับการวิเคราะห์เลคตินด้วยวิธี ELISA ในทางกลับกันปริมาณเลคตินจำเพาะที่หาด้วยวิธี ELISA หรือความจำเพาะในการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงในฮีโม -
ลิมฟ์ของกุ้งที่ฉีดด้วยน้ำเกลือมีค่าไม่แตกต่างกัน ณ เวลาต่าง ๆ หลังการฉีด ผลเหล่านี้บ่งชี้ว่าเลคตินในฮีโมลิมฟ์ของกุ้งแชบ๊วยมีบทบาทเป็นโปรตีนป้องกันตนเองจากสิ่งแปลกปลอม โดยเกาะกลุ่มสิ่งแปลกปลอมและยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค จากการหาปริมาณเลคตินจำเพาะ ในฮีโมลิมฟ์ของกุ้งเพศเมียที่มีพัฒนาการเจริญของรังไข่ในระยะที่ 2 ถึง 4 ด้วยวิธี ELISA พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกัน แต่มีค่าสูงกว่าของกุ้งระยะที่ 1 นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณเลคตินจำเพาะในฮีโมลิมฟ์ของกุ้งเพศผู้และกุ้งเพศเมียที่ไม่มีพัฒนาการเจริญของรังไข่มีค่าใกล้เคียงกัน ในขณะที่ปริมาณดังกล่าวในฮีโมลิมฟ์ของกุ้งเพศเมียที่มีพัฒนาการเจริญของรังไข่ซึ่งมีการสะสมไวเทลลินมีค่าสูงกว่า นอกจากนี้ ความสามารถในการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงของเลคตินในฮีโมลิมฟ์ของกุ้งเพศเมียที่มีพัฒนาการเจริญของรังไข่ในระยะที่ 1 และ 2 มีค่าใกล้เคียงกันโดยจะมีค่าเพิ่มขึ้นในระยะที่ 3 และมีค่าสูงสุดในระยะที่ 4 ผลการทดลองเหล่านี้บ่งชี้ว่าเลคตินที่พบในฮีโมลิมฟ์ของกุ้งแชบ๊วยอาจเกี่ยวข้องกับพัฒนาการเจริญพันธุ์ของรังไข่ในกุ้งแชบ๊วย แต่ยังไม่สามารถระบุหน้าที่อย่างชัดเจนของเลคตินได้จึงต้องการการวิจัยเพิ่มเติม