สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการรูป	(10)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ	(12)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์	25
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	26
วัสดุ	26
อุปกรณ์	28
วิธีการ	29
3. ผลการทดลองและวิจารณ์	42
4. สรุป	81
เอกสารอ้างอิง	83
ภาคผนวก	97
ประวัติผู้เขียน	100

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การทำให้เอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสบริสุทธิ์จากสารสกัดตับ	54
2	สมบัติของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสบริสุทธิ์	70
3	แอคทิวิทีจำเพาะของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสและเอนไซม์ NAGase ในส่วนต่าง ๆ ของกุ้งแชบ๊วย	71
4	แอคทิวิทีของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสและเอนไซม์ NAGase ของกุ้งที่ฉีดเชื้อ *Vibrio harveyi*	74
5	แอคทิวิทีจำเพาะของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสของกุ้งแชบ๊วยที่ฉีดด้วยจุลชีพชนิดต่าง ๆ	76
6	แอคทิวิทีจำเพาะของเอนไซม์ NAGase ของกุ้งแชบ๊วยที่ฉีดด้วยจุลชีพชนิดต่าง ๆ	77
7	แอคทิวิทีของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสของกุ้งแชบ๊วยที่ถูกกระตุ้นให้เกิดภาวะเครียด	79

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1	กุ้งแชบ๊วย (banana shrimp, *Penaeus merguiensis*)	4
2	โครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์ที่มีพันธะไกลโคซิดิกเป็นแบบเบตา-1,3	8
3	ขั้นตอนการย่อยสลายไคตินโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ไคติเนสและเอนไซม์ NAGase	15
4	โครงสร้างของเปปทิโดไกลแคน	21
5	ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ	22
6	ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการวัดแอคทิวิทีของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสในสารสกัดตับ (A) และในซีรัม (B)	43
7	เวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสในสารสกัดตับ (A) และในซีรัม (B)	45
8	pH ที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสในสารสกัดตับ (A) และในซีรัม (B)	47
9	อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสในสารสกัดตับ (A) และในซีรัม (B)	49
10	ปริมาณสับสเตรทลามินารินที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสในสารสกัดตับ (A) และในซีรัม (B)	51
11	กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส	52
12	การแยกเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสจากสารสกัดตับด้วยคอลัมน์ DEAE-Sephacel	55
13	แบบแผนโปรตีนใน Nondenaturing PAGE ของสารละลายเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสซึ่งทำให้บริสุทธิ์ในขั้นตอนต่าง ๆ ที่ย้อมคูมาซีบลู	56
14	การแยกสารละลายเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนส ที่ได้จากคอลัมน์ DEAE-Sephacel ด้วยคอลัมน์ Superdex 200 HR 10/30	58
15	แบบแผนโปรตีนใน SDS-PAGE ของสารละลายเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสที่ทำให้บริสุทธิ์ในขั้นตอนต่าง ๆ ที่ย้อมแบบซิลเวอร์	60

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
16	กราฟมาตรฐานของการหาน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสใน SDS-PAGE	62
17	การหาน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสโดยคอลัมน์ Superdex 200 HR10/30 (A) และกราฟมาตรฐาน (B)	63
18	ผลของ pH ต่อแอคทิวิทีของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสบริสุทธิ์	65
19	ผลของอุณหภูมิต่อแอคทิวิทีของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสบริสุทธิ์	66
20	ความเสถียรต่ออุณหภูมิของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสบริสุทธิ์	67
21	จลนศาสตร์ของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสบริสุทธิ์แบบ Hyperbola (A) และแบบ Lineweaver-Burk (B)	69
22	แอคทิวิทีจำเพาะของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสในซีรัมของกุ้งแชบ๊วยหลังการกระตุ้นให้เกิดภาวะเครียดที่เวลาต่าง ๆ	80

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

°ซ	=	องศาเซลเซียส
A	=	absorbance
BSA	=	bovine serum albumin
CM-cellulose	=	carboxymethyl-cellulose
DEAE-Sephacel	=	diethylaminoethyl-sephacel
K_m	=	Michaelis-Menten constant
K_{av}	=	distribution coefficient
EDTA	=	ethylenediaminetetraacetic acid
FPLC	=	fast protein liquid chromatography
M	=	molar
mA	=	milliampere
mg	=	milligram
min	=	minute
ml	=	milliliter
mM	=	millimolar
M_r	=	apparent molecular weight
NAG	=	N-acetyl –D-glucosamine
nmole	=	nanomole
*p*NP-NAG	=	*p*-nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide
PAGE	=	polyacrylamide gel electrophoresis
PCA	=	plate count agar
PMSF	=	phenylmethylsulphonylfluoride
pH	=	-log hydrogen ion concentration
R_f	=	relative mobility

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ (ต่อ)

SDS	=	sodium dodecyl sulphate
SDS-PAGE	=	sodium dodecyl sulphate- polyacrylamide gel electrophoresis
TB	=	tris buffer (50 mM Tris-HCl, pH 7.5)
TBS	=	tris buffer saline (50 mM Tris-HCl, pH 7.5-0.15 N NaCl)
TBS-PMSF	=	tris buffer saline- 1 mM PMSF
TCBS	=	thiosulphate citrate bile salt sucrose
TEMED	=	N,N,N′,N′-tetramethylethylenediamine
TSA	=	tryptic soy agar
TSB	=	tryptic soy broth
Tris	=	tris (hydroxymethyl) aminomethane
V_e	=	elution volume
V_o	=	void volume
V_t	=	total volume
V_{max}	=	maximal velocity
μg	=	microgram
μl	=	microliter
μmole	=	micromole
%	=	percent
α	=	alpha
β	=	beta