

## 4. สรุป

จากการศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ไคตินเนสและศึกษาสมบัติของเอนไซม์ NAGase รวมทั้งผลของการติดเชื้อ *V. harveyi* ที่มีต่อเอนไซม์ทั้งสองชนิดในงานวิจัยนี้สามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. ภาวะที่เหมาะสมในการวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ไคตินเนส คือ ใช้ collidal chitin เป็นสับสเตรท ทำปฏิกิริยาใน 0.1 M Tris-HCl, pH 6.0 ที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 2.5 ชั่วโมง และใช้ NAG ปริมาณในช่วง 0-120 nmole เป็นกราฟมาตรฐาน

2. ทำให้เอนไซม์ NAGase บริสุทธิ์จากสารสกัดได้ โดยโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุด้วยคอลัมน์ DEAE-Sephacel ตามด้วยคอลัมน์ Sephadex G-200 และ preparative PAGE อีก 2 ครั้ง ทำให้ได้เอนไซม์มีความบริสุทธิ์ 45, 249 และ 443 เท่าของสารสกัดเริ่มต้น ตามลำดับ

3. เอนไซม์ NAGase บริสุทธิ์ ปรากฏแถบโปรตีน 1 แถบ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 60,900 คัลตัน เมื่อข้อมแบบซิลเวอร์และแบบแอกทิวิตี ใน nondenaturing PAGE และปรากฏแถบโปรตีน 1 แถบ เช่นเดียวกัน ใน SDS-PAGE ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 104,000 คัลตัน บ่งชี้ว่าเอนไซม์นี้ไม่มีหน่วยย่อย

4. เอนไซม์ NAGase บริสุทธิ์ มีแอกทิวิตีสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 °C และที่ pH 6.0 มีความเสถียรต่ออุณหภูมิจนถึง 50 °C รวมทั้งมีจลนศาสตร์แบบ hyperbola และมีค่า  $K_m$  สำหรับ *p*NP-NAG เท่ากับ 10 mM และค่า  $V_{max}$  เท่ากับ 110.86  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  protein

5. พบแอกทิวิตีจำเพาะของเอนไซม์ NAGase ในกระเพาะและในตับมีค่าสูงกว่าในกล้ามเนื้อและในฮีโมลิมพ์

6. พบแอกทิวิตีของเอนไซม์ไคตินเนสเฉพาะในตับและกระเพาะ พบเล็กน้อยในฮีโมกลินฟี โดยไม่พบในกล้ามเนื้อ

7. แอกทิวิตีจำเพาะของเอนไซม์ NAGase ในสารสกัดตับและฮีโมกลินฟีของกิ้งก่าที่ติดเชื้อ *V. harveyi* สูงกว่ากิ้งก่าที่ไม่ได้ติดเชื้อ อยู่ในช่วง 1.50-2.13 เท่า ในขณะที่แอกทิวิตีของเอนไซม์ไคตินเนสมีระดับไม่แตกต่างกันในกิ้งก่าทั้งสองกลุ่ม