

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการรูป	(10)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(12)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	28
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	29
วัสดุ	29
อุปกรณ์	31
วิธีการ	31
3. ผลการทดลองและวิจารณ์	46
4. สรุป	80
เอกสารอ้างอิง	82
ภาคผนวก	96
ประวัติผู้เขียน	97

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การทำให้เอนไซม์ NAGase บริสุทธิ์จากสารสกัดตับ	60
2	สมบัติของเอนไซม์ NAGase บริสุทธิ์ที่แยกมาจากตับและจากซีรัม	75
3	แอกทิวิตีจำเพาะของเอนไซม์โคติเนสและเอนไซม์ NAGase ในกุ้งแชบ๊วย	77
4	แอกทิวิตีของเอนไซม์โคติเนสและเอนไซม์ NAGase ของกุ้งที่ฉีด เชื้อ <i>Vibrio harveyi</i>	79

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1	กุ้งแช่บ๊วย (banana prawn, <i>Penaeus merguensis</i>)	5
2	ขั้นตอนการย่อยสลายไคตินโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ไคติเนส และเอนไซม์ NAGase	7
3	โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส ไคตินและไคโตซาน	8
4	โครงสร้างของไคตินแบบต่าง ๆ	9
5	รูปแบบการย่อยสลายไคตินให้เป็นสารอื่น	10
6	โครงสร้างของเปปทิโดไกลแคน	27
7	ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ	28
8	ผลของการใช้สารละลาย HA ปริมาตรต่างๆ ต่อปฏิกิริยาของ DMAB	47
9	ความเข้มข้นของ DMAB ที่เหมาะสมต่อการหาปริมาณ NAG	48
10	กราฟมาตรฐานของ N-Acetyl glucosamine	49
11	ปริมาณสับสเตรท Colloidal chitin ที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยา ของเอนไซม์ไคติเนส	51
12	ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ไคติเนส	52
13	อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ไคติเนส	53
14	เวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ไคติเนส	54
15	pH ที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ไคติเนส	55
16	การแยกเอนไซม์ NAGase จากสารสกัดด้วยคอลัมน์ DEAE-Sephacel	58
17	แบบแผนโปรตีนใน Nondenaturing PAGE ของสารละลายเอนไซม์ NAGase ที่ทำให้บริสุทธิ์ในขั้นตอนต่าง ๆ ที่ย้อมแบบซิลเวอร์	59

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
18	การแยกสารละลายเอนไซม์ NAGase ที่ได้จากคอกัลมันน์ DEAE-Sephacel ด้วยคอกัลมันน์ Sephadex G-200	62
19	แบบแผนโปรตีนใน SDS-PAGE ของสารละลายเอนไซม์ NAGase ที่ทำให้บริสุทธิ์ในขั้นตอนต่าง ๆ ที่ยอมแบบซิลเวอร์	64
20	กราฟมาตรฐานของการหาน้ำหนักโมเลกุลใน SDS-PAGE	67
21	ผลของ pH ต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ NAGase บริสุทธิ์	69
22	ผลของอุณหภูมิต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ NAGase บริสุทธิ์	71
23	ความเสถียรต่ออุณหภูมิของเอนไซม์ NAGase บริสุทธิ์	72
24	จลนศาสตร์ของเอนไซม์ NAGase บริสุทธิ์แบบ Hyperbola (A) และแบบ Lineweaver-Burk (B)	74

ตัวย่อและสัญลักษณ์

°	= องศาเซลเซียส
A	= absorbance
BSA	= bovine serum albumin
CM-cellulose	= carboxymethyl-cellulose
DEAE-Sephacel	= diethylaminoethyl-Sephacel
K_m	= Michaelis-Menten constant
EDTA	= ethylenediaminetetraacetic acid
M	= molar
mA	= milliampere
mg	= milligram
min	= minute
ml	= milliliter
mM	= millimolar
M_r	= apparent molecular weight
NAG	= N-acetyl -D-glucosamine
nmole	= nanomole
pNP-NAG	= p-nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide
PAGE	= polyacrylamide gel electrophoresis
PMSF	= phenylmethylsulphonylfluoride
pH	= -log hydrogen ion concentration
R_f	= relative mobility

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

SDS	=	sodium dodecyl sulphate
SDS-PAGE	=	sodium dodecyl sulphate- polyacrylamide gel electrophoresis
TB	=	tris buffer (25 mM Tris-HCl, pH 7.5)
TBS	=	tris buffer saline (25 mM Tris-HCl, pH 7.5-0.15 N NaCl)
TBS-CaMg	=	tris buffer saline-1 mM CaCl ₂ -1 mM MgCl ₂
TBS-PMSF	=	tris buffer saline- 1 mM PMFS
TEMED	=	N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine
Tris	=	tris (hydroxymethyl) aminomethane
V_{\max}	=	maximal velocity
μg	=	microgram
μl	=	microliter
μmole	=	micromole
%	=	percent
α	=	alpha
β	=	beta