สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบาญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการรูป	(10)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(12)
1. บทนำ	
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	20
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	
วัสดุ	21
อุปกรณ์	23
วิธีการ	23
3. ผลการทดลองและวิจารณ์	38
4. สรุป	73
เอกสารอ้างอิง	75
ภาคผนวก	84
ประวัติผู้เขียน	85

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การทำให้เอนไซม์ NAGase บริสุทธิ์จากซีรัม	46
2	แอคทิวิทีจำเพาะของเอนไซม์ NAGase ในซีรัมและเนื้อเยื่อของกุ้งเพศเมียที่มีพัฒนาการเจริญพันธุ์ของรังไข่	70
3	แอคทิวิทีจำเพาะของเอนไซม์ NAGase ในซีรัมของกุ้งที่ฉีดเชื้อ *Vibrio harveyi*	72

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1	กุ้งแชบ๊วย (banana prawn, *Penaeus merguiensis*)	5
2	โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสและไคติน	6
3	ขั้นตอนการย่อยสลายไคตินโดยเอนไซม์ไคติเนสและเอนไซม์ NAGase	7
4	กราฟมาตรฐาน *p*-Nitrophenol	38
5	ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการวัดแอคทิวิที	39
6	เวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์	40
7	pH ที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์	41
8	อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์	42
9	การแยกเอนไซม์ NAGase จากซีรัมด้วยคอลัมน์ DEAE-Sephacel	44
10	แบบแผนโปรตีนใน Nondenaturing PAGE ของสารละลายเอนไซม์ที่ทำให้บริสุทธิ์ในขั้นตอนต่าง ๆ ที่ย้อมด้วยสีคูมาซีบลู (A) ย้อมแบบซิลเวอร์ (B) และย้อมแอคทิวิที (C)	47
11	การแยกสารละลายเอนไซม์ NAGase ที่ได้จากคอลัมน์ DEAE-Sephacel ด้วยคอลัมน์ Sephadex G-200	48
12	การแยกสารละลายเอนไซม์ NAGase ที่ได้จากคอลัมน์ Sephadex G-200 ด้วยคอลัมน์ N-Acetyl-D-glucosamine-agarose	50
13	การแยกสารละลายเอนไซม์ NAGase ที่ได้จากคอลัมน์ Sephadex G-200 ด้วยคอลัมน์ Concanavalin A-Sepharose 4B	52
14	การแยกสารละลายเอนไซม์ NAGase ที่ได้จากคอลัมน์ Sephadex G-200 ด้วยคอลัมน์ N-Acetyl-α-D-galactosamine-agarose	54

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
15	แบบแผนโปรตีนใน SDS-PAGE และ blot ของเอนไซม์บริสุทธิ์ซึ่งได้จากการทำ Preparative PAGE ครั้งที่ 2 (A) และกราฟมาตรฐานของการหาน้ำหนักโมเลกุล (B)	57
16	การหาน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์ NAGase โดยคอลัมน์ Superdex 200 (A) และกราฟมาตรฐาน (B)	59
17	ผลของ pH ต่อแอคทิวิทีของเอนไซม์ NAGase	60
18	ผลของอุณหภูมิต่อแอคทิวิทีของเอนไซม์ NAGase	62
19	ความเสถียรต่ออุณหภูมิของเอนไซม์ NAGase	64
20	ผลของ Ca^{2+} , Mg^{2+} และ EDTA ต่อแอคทิวิทีของเอนไซม์ NAGase	66
21	จลนศาสตร์ของเอนไซม์ NAGase แบบ Hyperbola (A) และแบบ Lineweaver-Burk (B)	68

ตัวย่อและสัญลักษณ์

°ซ	=	องศาเซลเซียส
A	=	absorbance
BSA	=	bovine serum albumin
Con A -Sepharose 4B	=	concanavalin A-Sepharose
CM-cellulose	=	carboxymethyl-cellulose
DEAE-Sephacel	=	diethylaminoethyl-Sephacel
K_m	=	Michaelis-Menten constant
EDTA	=	ethylenediaminetetraacetic acid
FPLC	=	fast protein liquid chromatography
M	=	molar
mA	=	milliampere
MetMan	=	methyl α-D-mannopyranoside
mg	=	milligram
min	=	minute
ml	=	milliliter
mM	=	millimolar
M_r	=	apparent molecular weight
NAcGal-agarose	=	N-acetyl-α-D-galactosamine-agarose
NAcGlc- agarose	=	N-acetyl –D-glucosamine-agarose
NAG	=	N-acetyl –D-glucosamine
nmole	=	nanomole
*p*NP-NAG	=	*p*-nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

PAGE	=	polyacrylamide gel electrophoresis
PMSF	=	phenylmethylsulphonylfluoride
pH	=	-log hydrogen ion concentration
R_f	=	relative mobility
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