

## 4. สรุป

ในการศึกษาสมบัติของซีรัมเลคตินของกึ่งแซบวัย การทำให้เลคตินบริสุทธิ์จากซีรัม และศึกษาสมบัติของเลคตินบริสุทธิ์ที่แยกได้ สรุปผลได้ดังนี้

1. ซีรัมเลคตินและเลคตินบริสุทธิ์สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงกระต่ายเกาะกลุ่มได้ดีกว่าเม็ดเลือดแดงของคน แต่เลคตินบริสุทธิ์มีแอกทิวิตีในการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงกระต่ายสูงกว่าซีรัมเลคติน 1,696 เท่า

2. กรดเอ็น-อะซีติลนิวรามินิคที่ความเข้มข้นต่ำสุด 1.56 mM สามารถยับยั้งซีรัมเลคตินและเลคตินบริสุทธิ์ในการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงกระต่ายได้ 100% ได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ เอ็น-อะซีติลกลูโคซามีน, เอ็น-อะซีติลกาแลคโตซามีน และเอ็น-อะซีติลแมนโนซามีน ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 6.25, 6.25 และ 12.50 mM ตามลำดับ ส่วนน้ำตาลกลูโคส, กาแลคโตสและแมนโนสไม่สามารถยับยั้งการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงกระต่ายได้ที่ความเข้มข้น 200 mM ในขณะที่ โกลโคโปรตีนได้แก่ ฟิทูอินและมิวซินสามารถยับยั้งการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงกระต่ายของซีรัมเลคตินได้สมบูรณ์ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 1.50 และ 0.50 มก./มล. ตามลำดับ และยับยั้งเลคตินบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 1.50 และ 1 มก./มล. ตามลำดับ ส่วนอะไซอะโลฟิทูอินไม่มีผลต่อแอกทิวิตีของเลคตินบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 5 มก./มล.

3. EGTA ที่ความเข้มข้น 0.075 mM ยับยั้งการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงกระต่ายของซีรัมเลคตินได้ 100% ไดวาเลนต์แคทไอออนซึ่งได้แก่  $\text{Ca}^{2+}$  ที่ความเข้มข้น 0.075 mM สามารถเอาชนะการยับยั้งของ EGTA ได้ แต่  $\text{Mg}^{2+}$  ไม่มีผล

4. ซีรัมเลคตินมีความเสถียรที่อุณหภูมิ 30-50 °C และมีความเสถียรที่ pH 7.5 รวมทั้งมีความสามารถเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงกระต่ายได้ดีที่สุดที่ pH 7-8 50 mM  $\text{Ca}^{2+}$  ช่วยทำให้สมบัติของซีรัมเลคตินเหล่านี้ดีขึ้น

5. สามารถทำให้เลคตินบริสุทธิ์ได้โดยใช้คอลัมน์ Fetuin-agarose เพียงขั้นตอนเดียว ซึ่งแยกได้โปรตีนพีค F2 ที่เป็นเลคตินบริสุทธิ์ มีแอกทิวิตี 61% และมีความ

บริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 1,696 เท่า ของซีรัมเลคตินเริ่มต้น เมื่อนำโปรตีนพีค F2 ไปแยกต่อกับ คอลัมน์ Superdex 200 HR10/30 แยกได้เลคตินบริสุทธิ์ที่มีแอกทิวิตี 1.15% และมีความบริสุทธิ์เป็น 1,089 เท่า ของซีรัมเลคตินเริ่มต้น

6. เลคตินบริสุทธิ์ที่แยกได้จากคอลัมน์ Fetuin-agarose ปรากฏโปรตีนเพียงแถบเดียวในโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไม่แปลงสภาพ มีน้ำหนักโมเลกุล 316,200 ดัลตัน จากการหาโดยคอลัมน์ Superdex 200 และโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบไม่แปลงสภาพ และปรากฏโปรตีน 2 แถบ ในโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบมีเอสดีเอสทั้งที่มีและไม่มีเบตา-เมอร์แคปโตเอธานอล โดยมีน้ำหนักโมเลกุล 32,300 และ 30,900 ดัลตัน ที่ติดสีย้อมคумаซีบลูด้วยความเข้มเท่า ๆ กัน บ่งชี้ว่าเลคตินบริสุทธิ์ประกอบด้วยหน่วยย่อยที่มีน้ำหนัก 32,300 และ 30,900 ดัลตัน อย่างละ 5 หน่วยย่อย ซึ่งไม่ได้ยึดกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์

7. เลคตินบริสุทธิ์มีกลูโคสและแมนโนสเป็นองค์ประกอบด้วยปริมาณ 180 และ 260 ไมโครกรัม/มก.โปรตีน ตามลำดับ

8.  $Ca^{2+}$  กระตุ้นความสามารถในการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงกระต่ายของเลคตินบริสุทธิ์ได้ 3 เท่า 0.075 mM EGTA ยับยั้งแอกทิวิตีของเลคตินบริสุทธิ์ได้อย่างสมบูรณ์ แต่เลคตินมีแอกทิวิตีที่กลับคืนเหมือนเดิมเมื่อมี 0.075 mM  $Ca^{2+}$  อยู่ด้วย ในขณะที่  $Mg^{2+}$  ไม่มีผลต่อแอกทิวิตี

9. เลคตินบริสุทธิ์มีความเสถียรต่ออุณหภูมิ 30-50 °C มีความเสถียรที่ pH 7.5-8 และมีความสามารถเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงกระต่ายได้ดีที่สุดที่ pH 7.5-8 50 mM  $Ca^{2+}$  ช่วยทำให้เลคตินบริสุทธิ์เสถียรต่ออุณหภูมิสูงขึ้นถึง 65 °C และช่วยทำให้เลคตินบริสุทธิ์เสถียรต่อ pH รวมทั้งมีความแอกทิวิตีในช่วง pH 7.5-8 ดีขึ้น

10. เบตา-เมอร์แคปโตเอธานอลและเอสดีเอสที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.39 และ 0.097 mM ตามลำดับ ยับยั้งการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงกระต่ายโดยเลคตินบริสุทธิ์ได้อย่างสมบูรณ์

11. เลคตินบริสุทธิ์ไม่เกิดปฏิกิริยาตกตะกอนกับอิมมูโนโกลบูลินของคนชนิด IgA และ IgG รวมทั้งกับไววันซีรัมอัลบูมิน ใน Ouchterlony double diffusion

12. เลคตินบริสุทธ์สามารถทำให้แบคทีเรียก่อโรคกึ่งได้แก่ *V. harveyi* และ *V. parahemolyticus* เกาะกลุ่มได้ดีที่สุดเท่ากัน รองลงมาคือ *V. vulnificus* แต่ไม่ทำให้ *V. cholerae*, *S. typhi* และ *E. coli* เกาะกลุ่ม ส่วนซีรัมเลคตินมีสมบัติในการเกาะกลุ่มแบคทีเรียเหล่านี้ในทำนองเดียวกันกับเลคตินบริสุทธ์ แต่มีแอกทิวิตีต่ำกว่าเลคตินบริสุทธ์มาก

13. ระดับเลคตินในฮีโมลิมฟ์ของกุ้งที่ฉีดด้วยเชื้อ *V. harveyi* นาน 10 ชั่วโมง มีค่าสูงกว่าของกุ้งชุดควบคุมที่ฉีดด้วยน้ำเกลือ 1.62 เท่า บ่งชี้ว่ากุ้งแชบ๊วยมีระดับของเลคตินในฮีโมลิมฟ์เพิ่มขึ้นตอบสนองต่อการติดเชื้อ

14. ระดับเลคตินในฮีโมลิมฟ์ของกุ้งเพศเมียตัวเต็มวัยที่เลี้ยงเป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อดินสูงกว่าของกุ้งเพศผู้ 1.55 เท่า ซึ่งมีแนวโน้มว่าเลคตินในฮีโมลิมฟ์อาจจะเกี่ยวข้องกับการเจริญพันธุ์ของรังไข่กุ้งแชบ๊วย เช่นเดียวกับของเพรียงและปลากะรัง