

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ทำให้ฮีโมไซยานินบริสุทธิ์จากฮีโมลิฟของกุ้งแชบ๊วย โคลนยีนฮีโมไซยานินจากตับกุ้ง และศึกษาคุณสมบัติและการแสดงออกของยีนฮีโมไซยานิน ซึ่งมีผลสรุปดังนี้

1. สามารถทำให้ฮีโมไซยานินบริสุทธิ์จากฮีโมลิฟด้วยวิธีอัลตราเซนตริฟิวส์และการทำ preparative PAGE ฮีโมไซยานินบริสุทธิ์มีมวลโมเลกุล 457 kDa ประกอบด้วยหน่วยย่อยที่มี 2 ขนาดคือ 79.4 และ 75 kDa ลำดับกรดอะมิโนปลายเอ็นของฮีโมไซยานินบริสุทธิ์เหมือนกับของยีนที่โคลนได้

2. ได้สังเคราะห์แอนติบอดีต่อฮีโมไซยานินบริสุทธิ์ และพัฒนาเทคนิค ELISA เพื่อใช้หาปริมาณฮีโมไซยานินในฮีโมลิฟได้ ซึ่งพบว่ามีปริมาณเป็น 85% ของโปรตีนทั้งหมดในฮีโมลิฟของกุ้งปกติ

3. จากการโคลนยีนพบว่า full-length cDNA ของยีนฮีโมไซยานินของกุ้งแชบ๊วย ประกอบด้วย 2,128 bp ที่มี 1 open reading frame (1,983 bp) ซึ่ง encode สายเปปไทด์ยาว 661 amino acid ยีนฮีโมไซยานินของกุ้งแชบ๊วยเหมือนกับของกุ้งขาว *P. vannamei* มากที่สุด (90%) และคล้ายกับของกุ้ง *F. chinensis* 75%

4. พบการแสดงออกของ mRNA ของยีนฮีโมไซยานินเฉพาะในตับของกุ้งแชบ๊วย

5. ในการบ่มด้วย *V. harveyi* พบการแสดงออกของ mRNA ของยีนฮีโมไซยานินซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี semiquantative RT-PCR เพิ่มขึ้นตามเวลาดังแต่ 0.5 ชั่วโมง และเพิ่มสูงสุดที่ 2.5 ชั่วโมงหลังการบ่ม จากนั้นมีค่าลดลง

6. จากการฉีดกุ้งด้วย *V. harveyi* พบการแสดงออกของ mRNA ของยีนฮีโมไซยานินซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี Real-Time PCR เพิ่มขึ้นที่ 6 ชั่วโมง และเพิ่มสูงสุดที่ 12 ชั่วโมง หลังการฉีด จากนั้นมีค่าลดลง ในทำนองเดียวกัน พบฮีโมไซยานินในฮีโมลิฟที่วิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA มีปริมาณเพิ่มขึ้นที่ 6 ชั่วโมง และเพิ่มสูงสุดที่ 12 ชั่วโมง หลังการฉีด จากนั้นมีค่าลดลง บ่งชี้ว่ายีนฮีโมไซยานินถูกกระตุ้นได้ด้วยเชื้อก่อโรคกุ้งและน่าจะมีบทบาทเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในกุ้ง ซึ่งควรมีการศึกษากลไกอย่างละเอียดต่อไป