



บทที่ 4

## วิจารณ์ผลการทดลอง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดพันธุวิศวกรรม
วันที่..... 28 พ.ค. 2555
เลขทะเบียน..... 247553
เลขเรียกหนังสือ.....

การศึกษาครั้งนี้สามารถแยกและทำโปรตีนที่ออกฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรียจากน้ำยางของต้นขนุน โปรตีนดังกล่าวมีขนาดประมาณ 48 kDa เมื่อวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE และมีค่า pI ประมาณ 4.2 และโปรตีนนี้มีคุณสมบัติสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานชนิด *P. aeruginosa* ATCC 27853 ได้ จากคุณสมบัติของโปรตีนดังกล่าวจึงเรียกโปรตีนชนิดนี้ว่า antimicrobial protein 48 kDa (AMP48) นอกจากนี้โปรตีนนี้ยังมี protease activity โดยสามารถย่อย gelatin และ casein ได้เมื่อทดสอบด้วย zymography นอกจากนี้ AMP48 ยังมีความคงทนต่อสภาพแวดล้อมที่มี reducing agent โดยเมื่อใส่ 2-mercaptoethanol ในโปรตีนพบว่าโปรตีนยังคงสามารถรักษาคุณสมบัติในการเป็น protease ไว้ได้

เอนไซม์ protease มีบทบาทที่สำคัญในพืช เช่น ในสรีรวิทยา, ใช้ในกระบวนการสลายสารจำพวก โปรตีนที่สะสมอยู่ในเมล็ดของพืชเพื่อใช้ในกระบวนการเจริญเติบโต หรือการงอกของเมล็ด, ใช้ใน กระบวนการกระตุ้นพวก proenzyme ให้อยู่ในรูปที่ทำงานได้เพื่อใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมต่าง ๆ เป็นต้น (Rudenskaya และคณะ, 1998) จากการศึกษาผลงานวิจัยอื่น ๆ พบว่ามีความเป็นไปได้ที่โปรตีนที่มี คุณสมบัติเป็นเอนไซม์ protease หรือเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนได้ สามารถใช้ยับยั้งหรือต้านเชื้อจุลชีพ เช่น สาร zingipain ซึ่งมีฤทธิ์เป็น cysteine protease สกัดได้จากเหง้าไพลดำ (*Zingiber ottensii* Valetton) ซึ่งมีฤทธิ์ต้าน เชื้อราและแบคทีเรีย (Karnchanatat และคณะ, 2011) ดังนั้นมีความเป็นไปได้ที่จะนำ protease ที่ได้จากพืชมา ใช้เป็นยารักษาโรคติดเชื้อจากจุลชีพได้

เนื่องจากการทดลองนี้โปรตีน AMP48 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *P. aeruginosa* ซึ่งเชื้อ แบคทีเรียชนิดนี้มีความสำคัญ (Kayser และคณะ, 2005) คือ สามารถพบได้ทั่ว ๆ ไปตามธรรมชาติ เช่น ใน ดิน, น้ำผิวดิน (surface water), ในพืช, ในลำไส้ของสัตว์ นอกจากนี้ยังก่อโรคที่สำคัญในมนุษย์ คือ ก่อให้เกิด การติดเชื้อในโรงพยาบาล (Kayser และคณะ, 2005) ซึ่งเป็นสาเหตุที่พบได้บ่อยมากกว่าเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ชนิดนี้ หรือโรคที่เกิดจากเชื้อฉวยโอกาสได้ เช่น โรคปอดอักเสบ (pneumonias) จากอุปกรณ์ช่วยหายใจใน โรงพยาบาล, โรคติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีแผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก, ทำให้เกิดกรวยไตอักเสบเรื้อรัง (chronic pyelonephritis), โรคเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบในผู้ติดยา, ภาวะที่หูชั้นนอกติดเชื้ออย่างรุนแรง (malignant otitis externa) พบได้บ่อยในผู้ป่วยเบาหวาน ซึ่งเป็นผู้มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง และการติดเชื้อในกระแสโลหิต (sepsis) ดังนั้นโปรตีน AMP48 ที่สกัดได้จากน้ำยางของต้นขนุน จึงมีแนวโน้มที่จะนำมาใช้ในการรักษาโรค ติดเชื้อจากแบคทีเรียชนิด *P. aeruginosa* ในโรงพยาบาลหรืออาจประยุกต์ใช้เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อในอุปกรณ์ การแพทย์ได้ นอกจากนี้ AMP48 ยังแสดงคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้คล้ายกับยาปฏิชีวนะ (antibiotics) โดยยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่จะออกฤทธิ์โดยการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและขนาดของเซลล์จุลชีพ หลังจากที่ได้รับยา ดังนั้นจึงสามารถใช้คุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงเซลล์ของจุลชีพหรือแบคทีเรียในการ บังชี้ถึงคุณสมบัติของสารสกัดต่อการมีฤทธิ์ต้านจุลชีพได้ (Yourassowsky และคณะ, 1982) และสารสกัด โปรตีน AMP48 จากน้ำยางของต้นขนุนในการศึกษาครั้งนี้สามารถออกฤทธิ์โดยการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและ

ขนาดของเซลล์แบคทีเรียชนิด *P. aeruginosa* โดยทำให้เซลล์แบคทีเรียมีลักษณะโค้งงอ และหดสั้นลง ภายหลังจากเติมสารสกัดโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเซลล์แบคทีเรียที่ไม่ได้เติมสารสกัด ซึ่งสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงได้อย่างชัดเจนโดยการศึกษาด้วยเทคนิค AFM