บทคัดย่อ

173815

เอนไซม์ย่อยไฟบรินสามารถพบได้หลากหลายแหล่งทั้งในอาหารและไม่ใช่อาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์พื้นบ้านของนานาประเทศในแถบเอเชีย เอนไซม์ย่อยไฟบรินได้ตรวจพบจากการทดสอบเบื้องต้นในถั่วเน่า ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ถั่วหมักพื้นบ้านของไทยและมีการบริโภคกันทั่วไปในเขตภาคเหนือของประเทศไทยเป็นระยะเวลายาวนานหลายทศวรรษ สารสกัดหยาบ (crude extract) จากถั่วเน่าสามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ด้วยเทคนิคการแยกสารที่มีประจุด้วย anion exchanger และนำเอนไซม์ที่ได้ศึกษาต่อด้วยเทคนิคทางอิเล็คโทรโฟรีซิสโดยวิธี continuous-elution native polyacrylamide gel electrophoresis (CNA-PAGE) เมื่อทดสอบความบริสุทธิ์ของเอนไซม์ให้แถบโปรตีนที่ 14.2 กิโลดาลตัน และสามารถย่อยสาย Aα, Bβ และ γ ของไฟบริโนเจนได้ นอกจากนี้การตรวจสอบเอนไซม์ที่ผ่านการแยกด้วยวิธี anion chromatography โดยวิธีไฟบรินไซโมกราฟีมีเอนไซม์ย่อยไฟบรินที่มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกับเอนไซม์ย่อยไฟบรินที่น้ำหนักโมเลกุล 14.2 กิโลดาลตัน และมีเอนไซม์ย่อยไฟบรินอย่างน้อย 4 ชนิด คือ น้ำหนักโมเลกุล 14.2, 20, 24 และ 45 กิโลดาลตัน ตามลำดับ การทดสอบความคงทนของเอนไซม์ย่อยไฟบรินในสารสกัดหยาบ พบว่าเอนไซม์สามารถคงทนความเป็นกรด-เบสในช่วง 5 ถึง 10 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และเสื่อมสภาพอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ด้วย PMSF และ TLCK จึงจัดเป็น serine protease ในการศึกษา *in vitro* พบว่าเอนไซม์ย่อยไฟบรินจากถั่วเน่าคงทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซิน แต่ไม่สามารถทนต่อเอนไซม์เปปซิน ดังนั้นเอนไซม์ย่อยไฟบรินจากถั่วเน่าที่ได้จัดเป็นสารโภชนเภสัชภัณฑ์ (nutraceuticals) ชนิดหนึ่ง ซึ่งอาจนำไปประยุกต์ใช้เพื่อป้องกันและ/หรือบรรเทาอาการของโรคหัวใจและหลอดเลือด หรืออาจนำไปพัฒนาเพื่อใช้เป็นยาย่อยสลายลิ่มเลือดต่อไป

ABSTRACT

173815

Fibrinolytic enzymes have been derived from various food and non-food sources in particular, traditional Asian foods. These potent enzymes were screened from *thau nao*, a traditional Thai fermented-soybean food and which has been consumed in the northern part of Thailand for several decades. The crude extract was purified using anion-exchange chromatography followed by the continuous-elution native polyacrylamide gel electrophoresis (CNA-PAGE). A 14.2 kDa fibrinolytic enzyme was purified and was able to cleave all chains of fibrinogen (i.e. Aα-, Bβ- and γ- fibrinogen). Moreover, fibrinolytic enzymes besides the 14.2 kDa were found from the semi-purified extract by fibrin zymography. Thau nao extract contained four plasmin-independent fibrinolytic activities which were correlated with the presence of 14.2, 20, 24 and 45 kDa protease in the extract. The enzymes activity was stable in the pH range of 5 to 10 at 37°C for 1 hour and was completely abolished by heating at 70°C for 10 min. Thau nao enzyme activity was inhibited by protease inhibitors, PMSF and TLCK, indicating that they were serine protease. From *in vitro* digestion study, it was found that the extracted enzyme was resistant to tryptic digestion but was digested by pepsin. In conclusion, the fibrinolytic enzyme from *thau nao* may be used as nutraceutical to prevent and/or alleviate cardiovascular disease or may be further developed as a fibrinolytic drug.