

ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio* แต่ละชนิดของน้ำเลือดหอยตะ โกรมกรามขาว และโปรตีนที่แยกได้จากน้ำเลือดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยน้ำเลือดหอยตะ โกรมกรามขาวที่มีความเข้มข้นโปรตีน 6.363 ± 0.923 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *V. harveyi*, *V. vulnificus* และ *V. cholerae* เท่ากับ 29.51 ± 1.66 , 22.31 ± 1.68 และ 33.38 ± 0.42 ตามลำดับ และโปรตีน P3 ที่มีความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi* และ *V. cholerae* เท่ากับ 95.03 ± 0.47 , 91.13 ± 0.85 , 86.06 ± 1.13 , 62.31 ± 0.46 และ 8.77 ± 3.82 ตามลำดับ เมื่อทดสอบสถานะที่เหมาะสมในการทำงานของโปรตีน P3 กับเชื้อ *V. parahaemolyticus* พบว่าโปรตีน P3 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเชื้อมากกว่าร้อยละ 80 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ช่วงพีเอช 6 ถึง 8 และมีความต้องการแคลเซียมไอออน 10 มิลลิโมลาร์ เมื่อแยกโปรตีน P3 ด้วยเทคนิค SDS-PAGE และเทคนิค 2-D PAGE ได้โปรตีนสองหน่วยย่อย ขนาด 30.5 กิโลดาลตัน (ค่า pI ประมาณ 5) และขนาด 25.0 กิโลดาลตัน (ค่า pI ประมาณ 3) เมื่อหาลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน P3 โดยเทคนิค LC-MS/MS พบว่าโปรตีนหน่วยย่อย ขนาด 25.0 กิโลดาลตัน มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายคลึงกับโปรตีน Sarcoplasmic calcium-binding protein (SCP) และโปรตีนหน่วยย่อยขนาด 30.5 กิโลดาลตัน มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายคลึงกับโปรตีน Hemocyte extracellular superoxide dismutase จากหอยนางรม *C. gigas* . เมื่อเทียบกับฐานข้อมูล nrFasta

The hemolymph and purified proteins of oyster *Crassostrea belcheri* exhibited significant antibacterial activity against *Vibrio spp.* The inhibitory effects of hemolymph (protein concentration of 6.363 ± 0.923 mg/ml) against *V. harveyi*, *V. vulnificus* and *V. cholerae* were 29.51 ± 1.66 , 22.31 ± 1.68 and 33.38 ± 0.42 respectively. Purified P3 protein (80 μ g/ml) had strong inhibitory effects on *V. Parahaemolyticus* (95.03 ± 0.47), *V. vulnificus* (91.13 ± 0.85), *V. Alginolyticus* (86.06 ± 1.13), *V. Harveyi* (62.31 ± 0.46) and and slight effect on *V. cholerae* (8.77 ± 3.82). The antibacterial activity against *V. parahaemolyticus* of the P3 protein was fully effective at 30°C, pH 6-8 with 10 mM of calcium ion. Molecular weight of the protein P3 was determined by SDS-PAGE and two-dimensional electrophoresis. The protein P3 consisted of two subunits, 25.0 kDa (pI~ 3) and 30.5 kDa (pI~ 5). Amino acid sequencing of the two protein subunits were analyzed by LC-MS/MS. Comparison with nrFasta database revealed that the 25.0 kDa protein was homologous to Sarcoplasmic calcium-binding protein (SCP). The 30.5 kDa protein showed highest homology to hemocyte extracellular superoxide dismutase from Pacific oyster, *C. gigas*.