

ระบบการป้องกันตนเองของคริสต์เตียน ขึ้นกับระบบภูมิคุ้มกันที่ไม่จำเพาะ ซึ่งประกอบด้วย การทำงานของโปรตีนและเอนไซม์หลายชนิด ในรายงานวิจัยฉบับนี้ได้ศึกษาเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนส และเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสถึงบทบาทที่เกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตนเองต่อการติดเชื้อก่อโรคของกุ้งแชบ๊วย

จากการหาสภาวะที่เหมาะสมในการวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสในฮีโมลิมฟ์และในสารสกัดตับของกุ้งแชบ๊วย พบว่าเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสทำงานได้ดี เมื่อใช้ลามีนารินเป็นสับสเตรท ใน 0.1 M sodium acetate, pH 6.0 บ่มที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 20 นาที นอกจากนี้ สภาวะที่เหมาะสมของการวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในฮีโมลิมฟ์ของกุ้งแชบ๊วย ทำโดยการให้ 5.7 mM L-DOPA เป็นสับสเตรท บ่มใน 10 mM cacodylate, pH 8 ณ อุณหภูมิห้องหรือที่ 40 °C และใช้เอนไซม์ทริปซิน (0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) หรือ SDS (0.5%) กระตุ้นแอกทิวิตีของเอนไซม์

พบแอกทิวิตีจำเพาะของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสมากในสารสกัดตับและกระเพาะ พบเล็กน้อยในกล้ามเนื้อและในฮีโมลิมฟ์ของกุ้งแชบ๊วย แต่พบแอกทิวิตีของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสมากสุดในฮีโมลิมฟ์ รองลงมาคือสารสกัดตับ

แอกทิวิตีของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสในฮีโมลิมฟ์และสารสกัดตับของกุ้งแชบ๊วยที่กระตุ้นให้มีการติดเชื้อก่อโรค *Vibrio harveyi* มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเป็น 2.57 และ 1.97 เท่าตามลำดับ เมื่อเทียบกับของกุ้งชุดควบคุมที่ฉีดด้วย 0.85% NaCl ในทำนองเดียวกัน เมื่อเหนี่ยวนำกุ้งแชบ๊วยด้วยการฉีด *V. harveyi* พบการตอบสนองโดยมีระดับแอกทิวิตีของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในฮีโมลิมฟ์เพิ่มขึ้นตามเวลา โดยมีแอกทิวิตีของเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ 6 และ 12 ชั่วโมง หลังการฉีดเป็น 1.91 และ 2.83 เท่า ตามลำดับ เมื่อเทียบกับค่าที่ชั่วโมง 0 (1 เท่า) ในขณะที่แอกทิวิตีของทั้งเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสและเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในฮีโมลิมฟ์ของกุ้งชุดควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกันที่เวลาต่าง ๆ หลังการฉีดด้วยน้ำเกลือ ผลการทดลองเหล่านี้บ่งชี้ว่าระดับแอกทิวิตีของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสและเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสที่เพิ่มสูงขึ้นในฮีโมลิมฟ์หรือในตับน่าจะเกี่ยวข้องกับการป้องกันตนเองต่อการติดเชื้อก่อโรคของกุ้งแชบ๊วย

The defense system of crustacean is dependent on the innate immune response that involves by many proteins and enzymes. In this report, β -1,3-glucanase and phenoloxidase were studied for their roles in defense mechanism against pathogenic infection of banana shrimps.

Optimal conditions for assay of β -1,3-glucanase activity in the hemolymph and hepatopancreas extract were by using laminarin as a substrate in 0.1 M sodium acetate, pH 6.0 and incubation at 60 °C for 20 min. In addition, L-DOPA (5.7 mM) was used as a substrate for optimal assay of phenoloxidase activity in the hemolymph. Incubation in 10 mM cacodylate buffer, pH 8 at room temperature or at 40 °C was performed in the presence of 0.5 mg/ml trypsin or 0.5% SDS as its activator.

High specific activities of β -1,3-glucanase were detected in the extract fractions from hepatopancreases and guts whereas traces were found in the muscle extract and hemolymph of banana shrimps. In contrast, the highest activity of phenoloxidase was detected in the hemolymph, while less was found in the hepatopancreas extract.

β -1,3-Glucanase activities in the hemolymph and hepatopancreas extract of banana shrimps infected with *Vibrio harveyi* were 2.57 and 1.97 folds, respectively. These were significantly higher than that of controls which were injected with 0.85% NaCl. In the similar manner, the increase of phenoloxidase activities in the hemolymph of banana shrimps challenged by *V. harveyi* injection was time response. After injection the shrimps by *V. harveyi*, phenoloxidase activities in the hemolymph significantly increased from hour 0 (1-fold) to hour 6 (1.91-fold) and reached the highest up to 2.83-fold at hour 12 of post-injection. Moreover, activities of both β -1,3-glucanase and phenoloxidase of the controls were not different at any times post-saline injection. These results indicate that the increase of β -1,3-glucanase and phenoloxidase activity levels in the hemolymph or hepatopancreas may respond to the pathogenic infection as a defense mechanism in banana shrimps.