

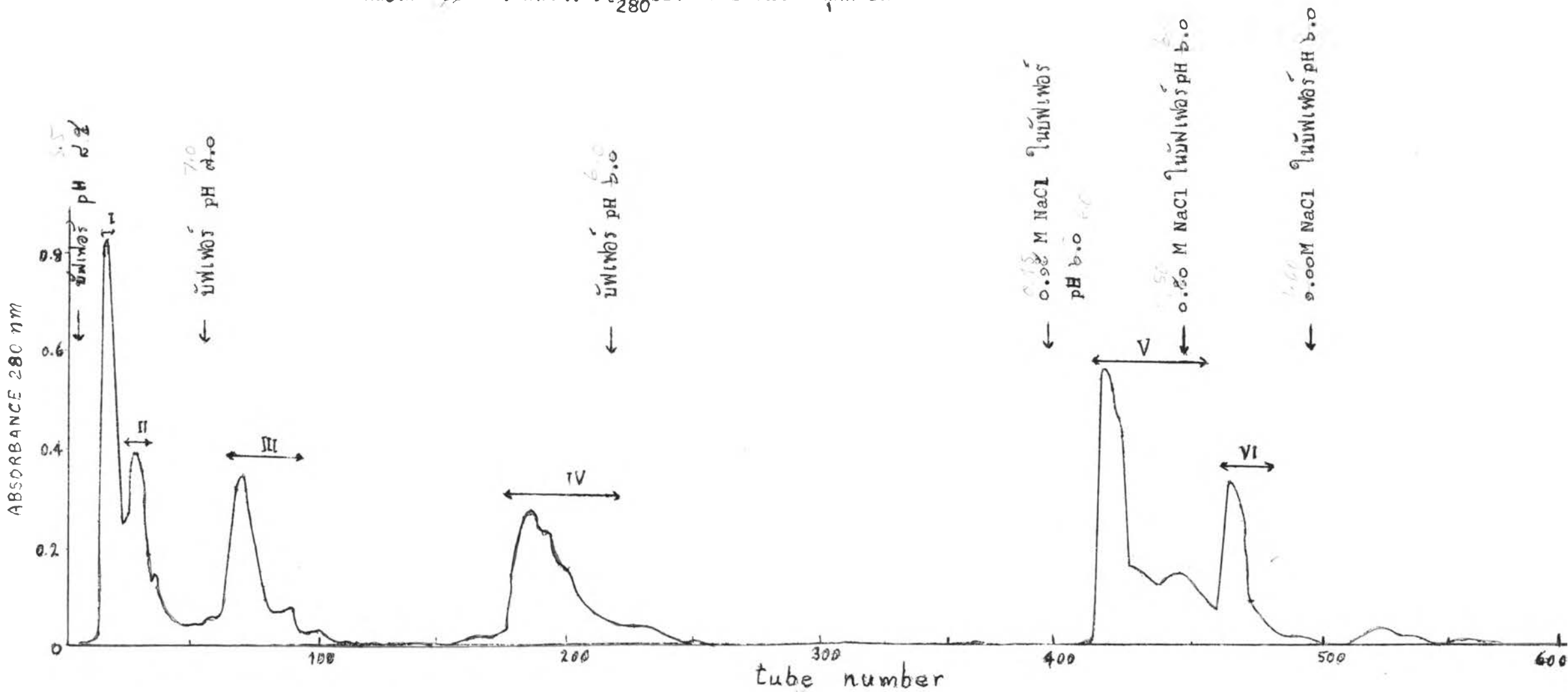
### ๓. ผลการทดลอง

#### ๓.๑ การแยกพืษูแมวเขาโดยเซลล์โลงคอดมัน

โคแยกพืษูแมวเขาโดย DEAE-cellulose คอดมัน แล้วใช้ทริส ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ที่ pH ต่าง ๆ กัน elute ลงมาตามลำดับ ครอบับ effluent หลอดละ ๑๐ มล. แล้วนำ effluent แต่ละหลอดไปวัดปริมาณโปรตีน โดยวัด OD<sub>280</sub> ผลการแยกพืษูแสดงไว้ในรูปที่ ๓ ซึ่งจะเห็นไควา พืษูจะถูกแบ่ง ออกเป็น ๖ peak ให้ชื่อตามเลขโรมันเป็น ส่วนที่ I, II, III, IV และ VI ตามลำดับ โคคส่วนที่ I เป็น effluent จากหลอดที่ ๑๓-๒๓ ส่วนที่ II จากหลอดที่ ๒๔-๔๐ ส่วนที่ III จากหลอดที่ ๖๓-๗๔ ส่วนที่ IV จากหลอดที่ ๑๓๗-๒๑๓ ส่วนที่ V จากหลอดที่ ๔๐๕-๔๖๐ และส่วนที่ VI จากหลอดที่ ๔๖๑-๔๘๑ พืษูส่วนที่ I กับ II และส่วนที่ V กับ VI มีบางส่วนคาบเกี่ยวกัน ไม่แยกออก จากกันโดยเด็ดขาด

พืษูที่แยกโคแต่ละส่วน นำมารวมกันภายหลังจากนำไปโคอะไลส์และ โไลโอไฟไลส์แล้ว ก็นำพืษูที่โคไปละลายใน ๐.๑๕ M โซเดียมคลอไรด์ นำสารละลาย ไปวัด OD<sub>280</sub> แล้วคำนวณปริมาณโปรตีนของพืษูแต่ละส่วน ผลที่โคแสดงไว้ในตาราง ที่ ๑ ซึ่งจะเห็นไควา พืษูส่วนที่ V มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดคือประมาณ ๑ ใน ๓ ของพืษูที่โคแยกทั้งหมด รองลงมาคือส่วนที่ VI และ I พืษูอีก ๓ ส่วนที่เหลือมี ปริมาณโปรตีนน้อยมาก และในจำนวนนี้ ส่วนที่ III มีปริมาณโปรตีนน้อยสุด recovery ของโปรตีนของพืษูทุกส่วนรวมกันประมาณ ๕๑.๘ %.

รูปที่ ๓ การแยกพญูแมวเซาด้วย DEAE-cellulose (คอลัมน์ โขยใช้ ๐.๐๑ M ทริสฟอสเฟต บัฟเฟอร์ และ NaCl ละลายใน ๐.๐๑ M ทริสฟอสเฟต บัฟเฟอร์ ( pH ของบัฟเฟอร์และความเข้มข้นของ NaCl แสดงไว้ส่วนบนของรูป) เป็น eluant เก็บ effluent หลอดละ ๑๐ มล. แล้ววัด  $A_{280}$  ของ effluent ทุกหลอด



ตารางที่ ๑ ปริมาณโปรตีนซึ่งคำนวณจากค่า OD<sub>280</sub> ของสิ่งยวดยิ่งที่แยกโดยเซตดูไลต์  
เมื่อใช้เพียงเริ่มก้นหนัก ๒๔๘.๖ มก.

venom fraction	volume (ml.)	calculated concentration (mg./ml.)	amount of protein in each fraction (mg.)	% recovery of protein in each fraction
I	34.5	1.22	42.1	14.2
II	37.0	0.48	17.8	6.0
III	35.0	0.45	15.8	5.3
IV	48.0	1.64	78.7	26.6
V	73.6	1.29	94.9	32.1
VI	35.5	0.72	22.6	7.6
total recovery				91.8

### ๓.๒ การวัดความเป็นพิษ

ได้วัดความเป็นพิษของพิษงูแมวเซาที่แยกโคแต่ละส่วน และของพิษงูแมวเซาที่ยังไม่แยก โดยฉีดสารละลายพิษงูความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เข้าในเส้นเลือดของหนู โชนหนูกลุ่มละ ๕ ตัว แล้วคำนวณหา LD<sub>50</sub> จากอัตราส่วนของจำนวนหนูที่ตายในแต่ละกลุ่ม ผลตามตารางที่ ๒ จะเห็นว่า พิษงูส่วนที่ II มีค่า LD<sub>50</sub> ต่ำสุด ก็ หมายความว่าความเป็นพิษสูงสุด รองลงมาคือส่วนที่ IV และส่วนที่ III สำหรับส่วนที่ VI หมายความว่าความเป็นพิษต่ำสุด ข้อที่น่าสังเกตก็คือ พิษงูทุกส่วนเป็นพิษต่อหนูทดลองทั้งสี่ และความเป็นพิษของพิษงูแต่ละส่วนที่แยกโคต่างก็มีค่าต่ำกว่าพิษงูที่ยังไม่แยกมาก ผลของการคำนวณหาความเป็นพิษรวมของพิษงูแต่ละส่วนที่แยกโค เทียบกับความเป็นพิษรวมของพิษงูที่ไซแยกทั้งหมด แสดงไว้ในตารางที่ ๒ เช่นกัน ซึ่งจะเห็นได้ว่า พิษงูส่วนที่ IV แม้จะมีค่าความเป็นพิษต่ำกว่า ส่วนที่ II แต่ปริมาณพิษงูส่วนที่ II น้อยกว่าส่วนที่ IV มาก ดังนั้น ส่วนที่ IV จึงมีความเป็นพิษรวมสูงสุด ส่วนที่ V หมายความว่าความเป็นพิษรวมรองลงมา ส่วนที่ VI หมายความว่าความเป็นพิษรวมน้อยที่สุด ความเป็นพิษรวมของพิษงูที่แยกโคทั้ง ๒ ส่วน รวมกันมีค่าเพียง ๒๑.๑% ของความเป็นพิษรวมของพิษงูที่ไซแยกทั้งหมด

ตารางที่ 1 ความเป็นพิษของพิษงูแมวเซาแต่ละส่วนที่แยกได้ และพิษงูที่ยังไม่แยก คำนวณจากผลที่ได้จากการฉีดสารละลายพิษงูความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เข้าในเส้นเลือดของหนู

venom fraction	log dose	response ratio	probit value	log LD <sub>50</sub>	LD <sub>50</sub> (μg/mouse)	LD <sub>50</sub> (μg/g i.v.)	number of LD <sub>50</sub> × 10 <sup>3</sup>	recovery of toxicity in each fraction
crude	0.824	4/5	5.84	0.760	5.76	0.41	721.0	100.0
	0.699	1/5	4.16					
	0.523	0/5	2.75					
I	1.820	5/5	7.25	1.496	31.3	2.25	18.7	2.6
	1.530	3/5	5.55					
	1.484	2/5	4.75					
	1.173	0/5	2.75					
II	1.477	5/5	7.25	1.156	14.3	1.05	17.0	2.4
	1.176	3/5	5.25					
	0.865	0/5	2.75					
III	2.001	5/5	7.25	1.390	24.6	1.71	9.1	1.3
	1.733	2/5	4.75					
	1.432	4/5	5.84					
	1.131	1/5	4.16					
	0.830	0/5	2.75					
IV	1.370	3/5	5.25	1.315	20.6	1.50	52.5	7.3
	1.194	1/5	4.16					
	1.069	0/5	2.75					
V	2.477	4/5	5.84	1.430	26.9	1.94	49.0	6.8
	2.134	4/5	5.84					
	1.833	4/5	5.84					
	1.532	3/5	5.25					
	1.231	2/5	4.75					
	0.930	1/5	4.16					
	0.629	1/5	4.16					
VI	2.209	5/5	7.25	1.815	65.3	4.70	4.8	0.7
	1.908	4/5	4.75					
	1.607	0/5	2.75					
total recovery								21.1

### ๓.๓ การวัด activity ของนอนสเปซฟิค อัลกาไลน์ โมโนเอสฟาเทส

ได้วัด activity ของนอนสเปซฟิค อัลกาไลน์ โมโนเอสฟาเทส ใน พืชงูแต่ละส่วนที่แยกได้ และพืชงูที่ยังไม่แยก โดยลัดังแสดงไว้ในตารางที่ ๓ ซึ่งจะเห็นว่า activity ของเอนไซม์ในพืชงูแมวเซาที่ยังไม่แยกมีค่ามาก พืชงูส่วนที่ I และ II มีค่า activity ของเอนไซม์สูงสุด รองลงมาคือส่วนที่ IV และ VI ส่วนที่ V มี activity ค่าสุด recovery ของเอนไซม์ในพืชงูที่แยกได้ทุก ความรวมกัน มีค่าสูงคือ ประมาณ ๘๐.๗% ของ activity ทั้งหมด

ตารางที่ ๓ activity ของอนุสเปซิฟ อีคคาไลน์ โมโนฟอสฟาเทส ในของและอะควานตีแมกโก และ ฟิงกูตังไมแมก

venom fraction	amount of assayed protein (mg.)	OD <sub>400</sub> increased in 60 min			activity (mU)	specific activity (mU/mg.)	relative specific activity	recovery of activity in each fraction
		1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	mean				
crude	0.30	0.024	0.039	0.032	0.133	0.44	100	100.0
I	0.37	0.062	0.061	0.062	0.258	0.70	159	22.6
II	0.14	0.023	0.016	0.020	0.084	0.60	140	8.4
III	0.14	0.008	0.007	0.008	0.033	0.24	56	3.0
IV	0.37	0.022	0.030	0.026	0.108	0.29	81	21.5
V	0.39	0.010	0.009	0.009	0.038	0.10	23	7.4
VI	0.22	0.022	0.026	0.024	0.100	0.45	102	7.8
total recovery								70.7

### ๓.๔ การวัด activity ของ 5'- นิวคลีโอไทด์

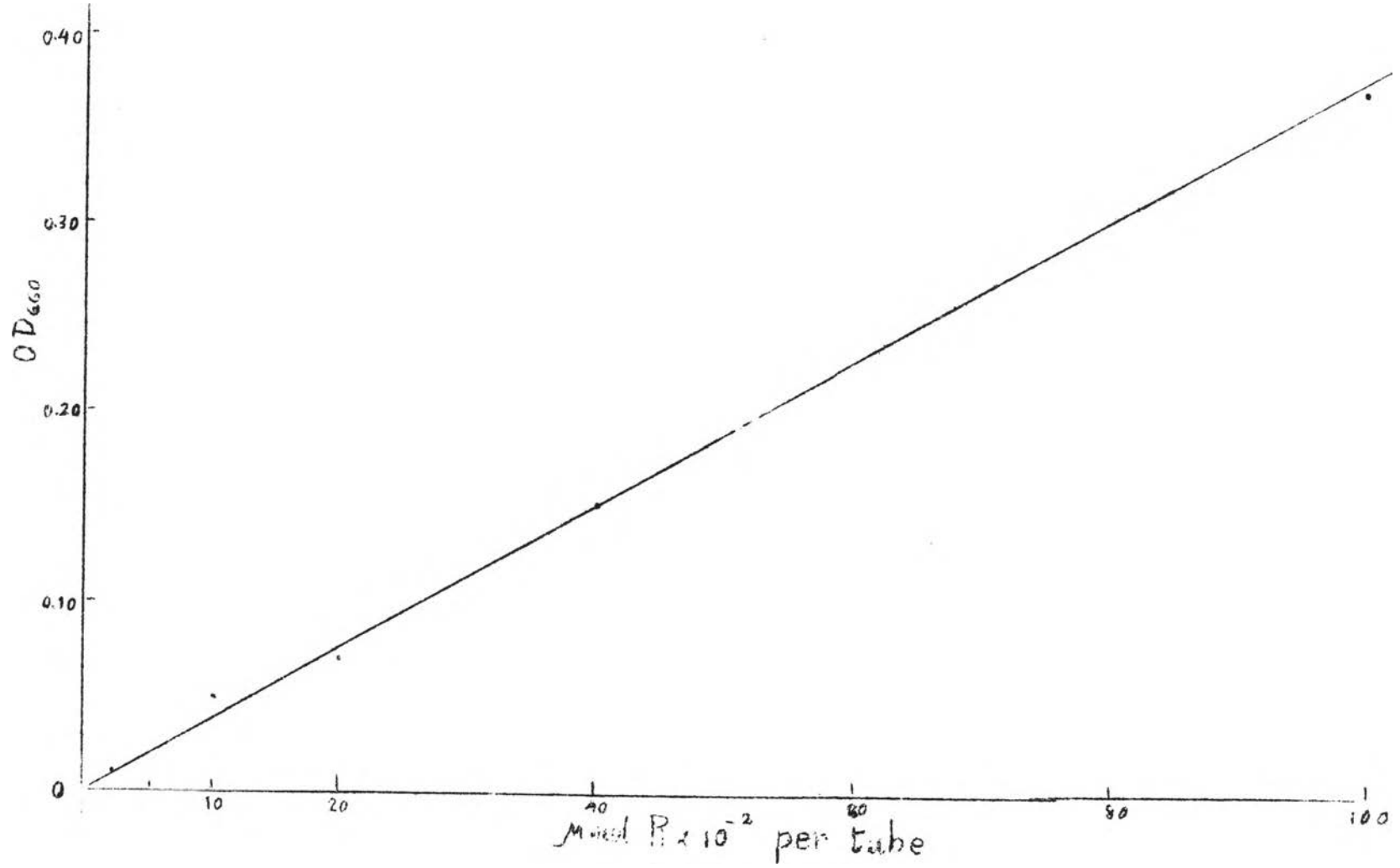
การวัด activity ของ 5'- นิวคลีโอไทด์ในพินัยูและส่วนที่แยก  
 ใต้ และพินัยูที่ยังไม่แยก ผลตามตารางที่ ๔ จะเห็นว่า activity ของเอนไซม์  
 ในพินัยูแมวเขายังไม่แยกมีค่าสูง activity ของพินัยูส่วนที่ V มีค่าสูงสุด คือ  
 ประมาณ ๑๒.๕ เท่าของพินัยูที่ยังไม่แยก รองลงมาคือ ส่วนที่ I และ IV ของพินา  
 สังกัดคือ activity ของเอนไซม์ในพินัยูแต่ละส่วนที่แยกได้ ยกเว้นส่วนที่ II  
 คงมีค่าสูงกว่าพินัยูที่ยังไม่แยกมากนัก recovery ของเอนไซม์ในพินัยูที่แยก  
 ใต้ทุกส่วน รวมกันมีค่าถึง ๕๗๒.๙๖ ของ activity ทั้งหมดของพินัยูที่เอนไซม์



ตารางที่ ๔ activity ของ 5'-นิวคลีโอไทเดส ในพิษงูแต่ละส่วนที่แยกได้และพิษงูที่ยังไม่แยก

venom fraction	amount of assayed protein (mg.)	OD <sub>660</sub> increased in 15 min			activity (U)	specific activity (U/mg.)	relative specific activity	recovery of activity in each fraction
		1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	mean				
crude	0.100	0.023	0.014	0.0185	0.01528	0.153	100	100.0
I	0.122	0.173	0.203	0.1880	0.17314	1.419	927	121.6
II	0.048	0.008	0.003	0.0055	0.00484	0.101	66	4.0
III	0.045	0.042	0.038	0.0400	0.03520	0.782	511	27.1
IV	0.164	0.085	0.054	0.0695	0.05896	0.360	235	62.5
V	0.129	0.312	0.256	0.2840	0.24992	1.938	1267	396.7
VI	0.072	0.130	0.081	0.1055	0.09284	1.291	790	61.0
total recovery								572.9

รูปที่ ๔ กราฟมาตรฐานสำหรับคำนวณหาปริมาณฟอสเฟต ในกรวยวัด activity ของ 5:1 นวดดีไฮโดไทเคส



### ๓.๕ การวัด activity ของเอกโซนิวคลีเอส

การวัด activity ของเอกโซนิวคลีเอส ในพินูแต่ละส่วนที่แยกโค และพินูที่ยังไม่แยก ผลตามตารางที่ ๕ จะเห็นว่า activity ของเอนไซม์ในพินูที่ยังไม่แยก มีค่าสูงพอสมควร พินูส่วนที่ I มี activity ของเอนไซม์ที่สูงสุด คือประมาณ ๒.๒ เท่าของพินูที่ยังไม่แยก พินูส่วนที่ IV และ III มี activity รองลงมา พินูอีก ๓ ส่วนที่เหลือแทบจะไม่แสดง activity ของเอนไซม์เลย recovery ของเอนไซม์ในพินูที่แยกโคทุกส่วนรวมกัน มีค่าพอสมควร คือ ประมาณ ๕๘.๗% ของ activity ทั้งหมดของพินูที่ใช้แยก

ตารางที่ ๕ activity ของเอนไซม์วอลลิเอส ในพิษงูแต่ละส่วนที่แยกได้ และพิษงูที่ยังไม่แยก

venom fraction	amount of assayed protein	OD <sub>400</sub> increased in 15 min.			activity (mU)	specific activity (mU/mg)	relative specific activity	recovery of activity in each fraction
		1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	mean				
crude	0.100	0.338	0.380	0.355	5.98	59.8	100	100.0
I	0.122	1.100	0.800	0.950	15.83	129.5	216	30.7
II	0.048	0.000	0.004	0.002	0.03	0.7	1	0.1
III	0.045	0.042	0.062	0.052	0.86	19.1	32	1.7
IV	0.164	0.570	0.357	0.464	7.73	47.1	79	21.0
V	0.129	0.011	0.013	0.012	0.20	1.6	3	1.0
VI	0.072	0.005	0.010	0.006	0.13	1.8	3	0.2
total recovery								54.7

๓.๖ การวัด activity ของคอกอกซีโรโบนิวคลีเอส

ได้วัด activity ของคอกอกซีโรโบนิวคลีเอสในพืชยูและส่วนที่แยก  
ไค และพืชที่ยังไม่แยก ผลตามตารางที่ ๖ จะเห็นว่า activity ของเอนไซม์นี้  
ในพืชที่ยังไม่แยกมีค่าสูง และพบ activity ของเอนไซม์นี้เฉพาะในพืช ๔ ส่วน  
แรกเท่านั้น ส่วนที่ III มี activity สูงสุด รองลงมาคือ ส่วนที่ IV และ I  
พืชส่วนที่ III มี activity สูงถึง ๒.๗ เท่าของพืชที่ยังไม่แยก พืชส่วน  
ที่ V และ VI ไม่แสดงคุณสมบัติของเอนไซม์นี้โดย activity ของเอนไซม์  
นี้ในพืชทั้ง ๖ ส่วนรวมกัน มีค่าสูงมากคือ สูงถึง ๘๑.๑ เท่าของ activity  
ของพืชที่แยกทั้งหมด

activity

venom fraction	amount of assayed protein (mg)	OD <sub>260</sub> increased/min			activity (milliunit)	specific activity (milli-unit/mg)	relative specific activity	recovery of activity in each fraction
		1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	mean				
crude	0.250	0.00370	0.00298	0.00334	3.34	13.36	100	100.0
I	0.076	0.00133	0.00100	0.00116	1.16	15.26	114	16.2
II	0.120	0.00105	0.00066	0.00086	0.86	7.17	54	3.2
III	0.112	0.00359	0.00437	0.00398	3.98	35.54	266	14.1
IV	0.105	0.00263	0.00237	0.00250	2.50	23.81	179	47.6
V	0.322	0	0	0	0	0	0	0
VI	0.160	0	0	0	0	0	0	0
total recovery								81.1

### ๓.๗ การวัด activity ของเซลล์ไฟโลเปส เอ

โดยวัด activity ของเซลล์ไฟโลเปส เอ ในพืชยูเทล ส่วนที่แยกได้ และพืชที่ยังไม่แยก ผลการตารางที่ ๗ จะเห็นว่า activity ของเฮนไซม์ที่ไม่เฉพาะเจาะจงไม่แยกมากสูงใกล้เคียง (specific activity สูงถึง ๖๗.๘ ซี ต่อ มก.) ขณะที่ ส่วนที่ III มี activity สูงสุด รองลงมาคือ ส่วนที่ II, I และ IV activity ของพืชส่วนต่าง ๆ ยกเว้นส่วนที่ III มีค่าต่ำกว่า activity ของพืชที่ยังไม่แยกมาก recovery ของเฮนไซม์ในพืชที่แยกได้ทุกส่วนรวมกันมีค่าเพียง ๒๕.๒ % ของ activity ทั้งหมดของพืชที่ไม่แยก

ตารางที่ ๗ activity ของ พอสไฟไลเปส เอ ในพิษงูแต่ละส่วนที่แยกได้ และพิษงูที่ยังไม่แยก

venom fraction	amount of assayed protein (mg)	NaOH required in 3 min ( $\mu$ mol)			activity (U)	specific activity (U/mg)	relative specific activity	recovery of activity in each fraction
		1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	mean				
crude	0.200	10.6991	10.2275	10.4633	3.4877	17.44	100	100.0
I	0.244	4.7154	4.6097	4.6097	1.5365	6.30	36	5.1
II	0.096	3.2520	4.0670	3.6595	1.2198	12.70	73	4.4
III	0.090	3.3521	6.7316	5.0468	1.6808	18.67	107	5.7
IV	0.328	5.6951	5.7016	5.7984	1.9329	5.89	34	9.0
V	0.258	1.0244	1.5122	1.2683	0.4228	1.64	9	2.9
VI	0.144	1.5194	0.6419	1.0806	0.3602	2.50	14	1.1
total recovery								28.2



### ๓.๔ การวัด activity ของพอสไฟไลเปส มี

ได้วัด activity ของพอสไฟไลเปส มี ในพินูแต่ละส่วนที่แยกได้ และพินูที่ยังไม่แยก ผลตามตารางที่ ๔ จะเห็นว่า activity ของเอนไซม์ในพินูที่ยังไม่แยกมีค่า และ activity นี้กระจายอยู่กับพินูที่แยกได้ทุกส่วน พินูส่วนที่ V มี activity สูงสุด รองลงมาคือ ส่วนที่ IV และ VI อย่างไรก็ตาม recovery ของเอนไซม์ในพินูที่แยกได้ทุกส่วนรวมกัน มีค่าถึง ๑๖๖.๔ % ของ activity ทั้งหมดของพินูที่ไซแยก

ตารางที่ ๔ activity ของ ฟอสโฟไลเปส บี ในพินนุแต่ละส่วนที่แยกได้ และพินนุที่ยังไม่แยก

venom fraction	amount of assayed protein (mg)	NaOH required in 3 min ( $\mu$ mol)			activity (U)	specific activity (U/mg)	relative specific activity	recovery of activity in each fraction
		1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	mean				
crude	1.00	0.1895	0.1401	0.1648	0.0549	0.05	100	100.0
I	1.22	0.0948	0.0330	0.0639	0.0220	0.02	40	5.7
II	0.48	0.0412	0.0906	0.0654	0.0227	0.05	100	6.0
III	0.45	0.0206	0.0124	0.0164	0.0055	0.01	20	1.1
IV	1.64	0.4285	0.4944	0.4620	0.1540	0.09	180	47.9
V	1.29	0.5232	0.3997	0.4614	0.1538	0.12	240	77.0
VI	0.72	0.1648	0.0906	0.1277	0.0426	0.06	120	9.1
total recovery								146.8

### ๓.๕ การวัด activity ของ อะมิโนแอซิด เอสเทอร์

การวัด activity ของอะมิโนแอซิด เอสเทอร์ ในพืชมุแต่ละส่วนที่แยกได้และพืชมุที่ยังไม่แยก ผลตามตารางที่ ๕ จะเห็นว่า activity ของเอนไซม์ในพืชมุที่ยังไม่แยกมีค่าสูงเหลือเกิน (specific activity มีค่าถึง ๑๑๕ U ต่อ มก.) พืชมุส่วนที่ V มี activity สูงสุดคือประมาณ ๒.๗ เท่าของพืชมุที่ยังไม่แยก และพบ activity อีกจำนวนเล็กน้อยในพืชมุ ส่วนที่ I, IV และ IV และ activity ของพืชมุทั้ง ๓ ส่วนที่กล่าวนี้ก็มียกาน้อยเหลือเกิน เมื่อเทียบกับส่วนที่ V พืชมุอีก ๒ ส่วนที่เหลือไม่แสดงสมบัติของเอนไซม์เลย recovery ของเอนไซม์ในพืชมุที่แยกได้ทุกส่วนรวมกันมีค่าสูง คือประมาณ ๗๘.๑ % ของ activity ทั้งหมดของพืชมุที่เอนไซม์

ตารางที่ ๘ activity ของ อะมิโนเอซิดเอสเทอเรส ในพิษงูแต่ละส่วนที่แยกโดยละในพิษงูที่ยังไม่แยก

venom fraction	amount of assayed protein (mg)	OD <sub>254</sub> increased per min			activity (U)	specific activity (U/mg)	relative specific activity	recovery of activity in each fraction
		1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	mean				
crude	0.150	0.01967	0.01986	0.01973	17.18	114.6	100	100.0
I	0.184	0.00170	0.00172	0.00171	1.50	8.2	7	1.0
II	0.072	0	0	0	0	0	0	0
III	0.068	0	0	0	0	0	0	0
IV	0.246	0.00078	0.00053	0.00066	0.57	2.3	2	0.5
V	0.065	0.01683	0.02360	0.02022	17.63	271.2	238	76.4
VI	0.108	0.00035	0.00046	0.00040	0.36	3.3	3	0.2
total recovery								78.1

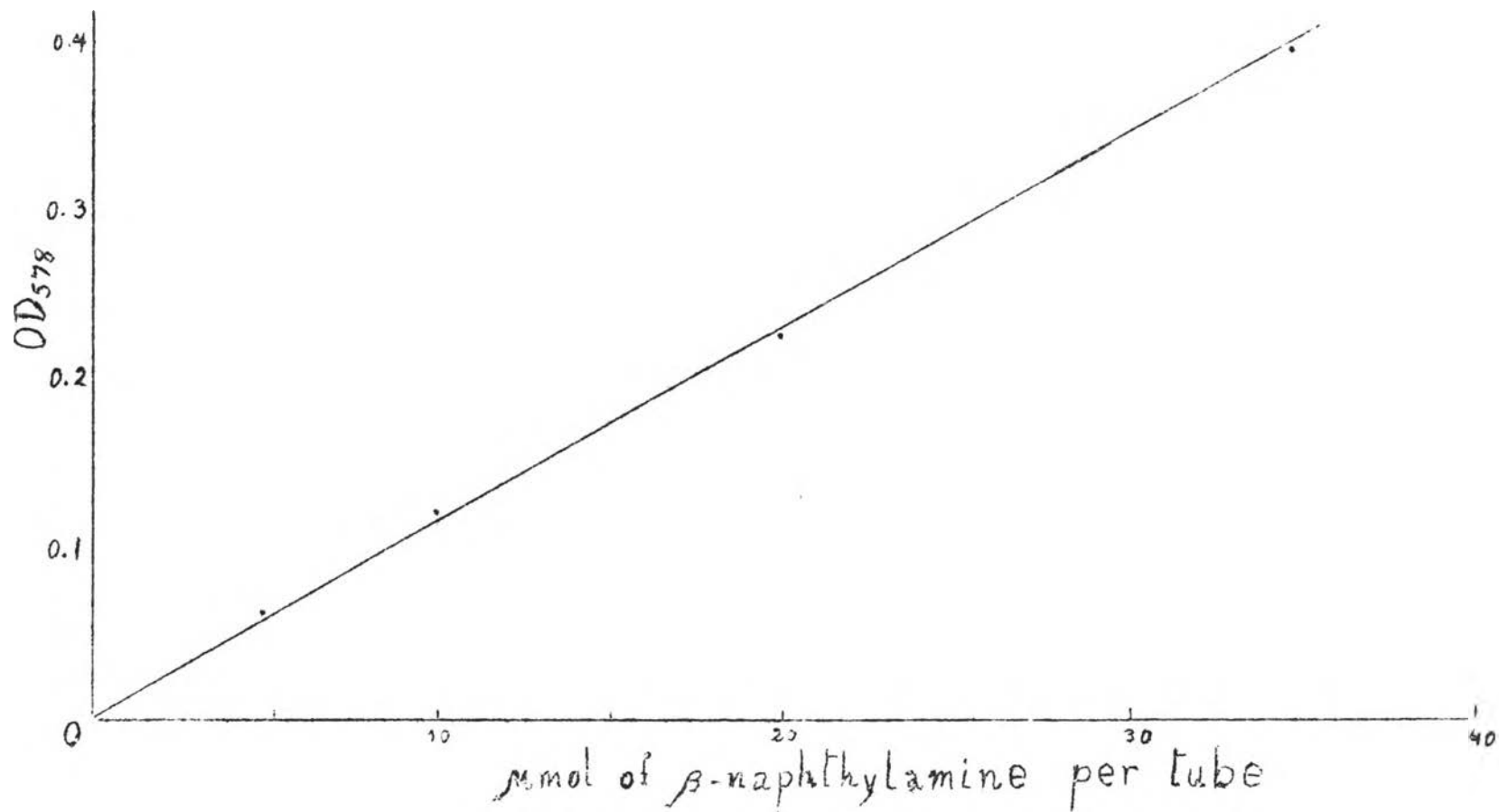
### ๓.๑๐ การวัด activity ของเปปไทด์

การวัด activity ของเปปไทด์ ในพินูแต่ละส่วนที่แยกได้ และ พินูที่ยังไม่แยก ผลตามตารางที่ ๑๐ จะเห็นว่า activity ของเอนไซม์ในพินูที่ยังไม่แยกมีค่าสูง (specific activity มีค่า ๑.๓๙ U ต่อ มก.) พินูส่วนที่ V มี activity สูงสุด รองลงมาคือ ส่วนที่ IV พินูส่วนอื่น ๆ ที่เหลือแทบจะไม่แสดงคุณสมบัติของเอนไซม์เลย recovery ของเอนไซม์ในพินูที่แยกได้ทุกส่วนรวมกัน มีค่าต่ำมาก ก็เพียง ๑๕.๙ % ของ activity ทั้งหมดของพินูที่ไซแยก

ตารางที่ ๑๐ activity ของ เปปไทด์ ในพิษงูแต่ละส่วนที่แยกได้ และในพิษงูที่ยังไม่แยก

venom fraction	amount of assayed protein (mg)	OD <sub>578</sub> increased in 60 min			activity (U)	specific activity (U/mg)	relative specific activity	recovery of activity in each fraction
		1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	mean				
crude	1.00	0.300	0.163	0.232	1.392	1.39	100	100.0
I	1.22	0.026	0.006	0.016	0.096	0.08	6	0.2
II	0.48	0.002	0.007	0.004	0.024	0.05	4	0.2
III	0.45	0.009	0.003	0.006	0.036	0.08	6	0.3
IV	1.64	0.000	0.005	0.002	0.012	0.01	1	0.3
V	1.29	0.145	0.085	0.115	0.690	0.54	39	12.5
VI	0.72	0.033	0.047	0.040	0.240	0.33	24	1.8
total recovery								15.9

รูปที่ ๕ กราฟมาตรฐานสำหรับกำหนดหาปริมาณของ  $\beta$ -naphthylamine ในการวัด activity ของเปปไทเดส



### ๓.๑๑ การวัด activity ของโปรตีน

การวัด activity ของโปรตีนในพืชแต่ละส่วนที่แยกได้และพืชที่ยังไม่แยก ผลตามตารางที่ ๑๑ จะเห็นว่า activity ของเอนไซม์นี้ในพืชที่ยังไม่แยกมีค่าต่ำเหลือเกิน และ activity นี้ก็กระจายอยู่กับพืชที่แยกได้ทุกส่วน พืชส่วนที่ I มี activity สูงสุด รองลงมาคือส่วนที่ III พืชส่วนอื่นที่เหลือต่างก็มี activity ต่ำกว่าพืชที่ยังไม่แยก recovery ของเอนไซม์นี้ในพืชที่แยกได้ทุกส่วนรวมกัน มีค่าสูง คือประมาณ ๗๔.๕ % ของ activity ทั้งหมดของพืชแมวเซาที่ไซแยก



ตารางที่ ๑๑ activity ของโปรตีนในพิษงูและส่วนที่แยกได้ และพิษงูพิษไม่แยก

venom fraction	amount of assayed protein (mg)	OD <sub>280</sub> increased in 60 min			activity (milliunit)	specific activity (milliunit/mg)	relative specific activity	recovery of activity in each fraction
		1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	mean				
crude	1.00	0.160	0.060	0.110	1.83	1.8	100	100.0
I	1.22	0.338	0.160	0.249	4.15	3.4	189	26.8
II	0.48	0.070	0.033	0.052	0.84	1.7	94	5.6
III	0.45	0.060	0.037	0.048	0.80	1.8	100	5.3
IV	1.64	0.070	0.055	0.062	1.03	0.6	33	8.8
V	1.29	0.135	0.097	0.116	1.39	1.5	83	26.6
VI	0.72	0.080	0.043	0.062	1.03	1.4	78	1.4
total recovery								74.5

### ๓.๑๒ การวัด activity ของอะมิโนแอซิดออกซาลิเอส

การวัด activity ของอะมิโนแอซิด ออกซาลิเอส ในพืชแต่ละส่วนที่แยกได้ และพืชที่ยังไม่แยก ผลตามตารางที่ ๑๒ จะเห็นว่า activity ของเอนไซม์ในพืชที่ยังไม่แยกมีค่ามาก พืชส่วนที่ V มี activity สูงสุดคือสูงประมาณ ๑.๘ เท่าของพืชที่ยังไม่แยก พืชส่วนที่ VI และ I มี activity รองลงมา ส่วนที่ III ไม่แสดงสมบัติของเอนไซม์นี้เลย อย่างไรก็ตาม recovery ของเอนไซม์ในพืชที่แยกได้ทุกส่วนรวมกันมีค่าสูงถึง ๙๗.๖ % ของ activity ทั้งหมดของพืชที่ไซแยก

ตารางที่ ๑๒ activity ของ อะมิโนเอซิด ออกซิเดส ในพลาสมาและส่วนที่แยกได้ และในพลาสมาซึ่งไม่แยก

venom fraction	amount of assayed protein (mg)	OD <sub>300</sub> increased in 60 min			activity (milli-unit)	specific activity (milli-unit/mg)	relative specific activity	recovery of activity in each fraction
		1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	mean				
crude	0.50	0.015	0.020	0.0175	0.29	0.58	100	100.0
I	0.61	0.025	0.015	0.0200	0.33	0.54	93	13.2
II	0.24	0.004	0.003	0.0035	0.06	0.25	43	2.6
III	0.22	0.000	0.000	0.0000	0	0	0	0
IV	0.82	0.014	0.012	0.0130	0.26	0.32	55	14.6
V	0.64	0.043	0.038	0.0405	0.68	1.06	183	58.7
VI	0.36	0.017	0.010	0.0135	0.22	0.60	104	7.9
total recovery								97.6

### ๓.๑๓ การวัด activity ของไฮยาลูโรนเนส

ได้วัด activity ของไฮยาลูโรนเนส ในพินูส่วนต่าง ๆ ที่แยก  
 ใด และพินูที่ยังไม่แยก ผลตามตารางที่ ๑๓ จะเห็นว่า activity ของเอนไซม์  
 นี้ในพินูแนวเขาที่ยังไม่แยกมีค่ามาก และ activity นี้กระจายอยู่กับพินู  
 ทุกส่วนที่แยกได้ พินูส่วนที่ III มี activity สูงสุด รองลงมาคือ ส่วนที่ I  
 และ III อย่างไรก็ตาม activity ของเอนไซม์ในพินูแต่ละส่วนที่แยกได้  
 ต่างก็มีค่าต่ำกว่าพินูที่ยังไม่แยก recovery ของเอนไซม์ในพินูที่แยกได้ ทุก  
 ส่วนรวมกัน มีค่าเพียง ๒๕.๕ % ของ activity ทั้งหมดของพินูที่แยก

ตารางที่ ๑๓

activity ของ โอลิโกโรโนเลส ในพิษงูแต่ละส่วนที่แยกได้ และพิษงูที่ยังไม่แยก

venom fraction	amount of assayed protein (mg)	OD <sub>585</sub> increased in 120 min			activity (milli-unit)	specific activity (milli-unit/mg)	relative specific activity	recovery of activity in each fraction
		1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	mean				
crude	1.00	0.045	0.038	0.042	0.35	0.35	100	100.0
I	1.22	0.048	0.025	0.036	0.30	0.25	71	10.0
II	0.48	0.012	0.018	0.015	0.12	0.25	71	4.3
III	0.45	0.017	0.017	0.017	0.14	0.31	89	4.7
IV	1.64	0.003	0.000	0.002	0.02	0.01	3	0.8
V	1.29	0.006	0.007	0.006	0.05	0.04	11	3.5
VI	0.72	0.005	0.010	0.008	0.07	0.10	29	2.2
total recovery								25.5

๓.๑๘ การวัด activity ของการช่วยให้ออกแข็งตัว

โดยวัด activity ของการช่วยให้ออกแข็งตัวในพินูแต่ละส่วนที่แยก  
โคและพินูที่ยังไม่แยก ผลตามตารางที่ ๑๘ จะเห็นว่า activity ของการช่วย  
ให้ออกแข็งตัวของพินูแนวเขาที่ยังไม่แยกมีค่าสูงมาก พินูส่วนที่ V มี activity  
สูงสุด คือสูงถึง ๗.๘ เท่าของพินูที่ยังไม่แยก ในขณะที่พินูส่วนอื่น ๆ ทั้ง ๕ ส่วน แยก  
ไม่แสดงคุณสมบัติของการช่วยให้ออกแข็งตัวเลย อย่างไรก็ตาม recovery ของ  
activity ในการช่วยให้ออกแข็งตัวในพินูที่แยกโคแต่ละส่วนรวมกันมีค่าสูงถึง  
๒๓๗.๘ เท่าของ activity ทั้งหมดของพินูที่ไม่แยก

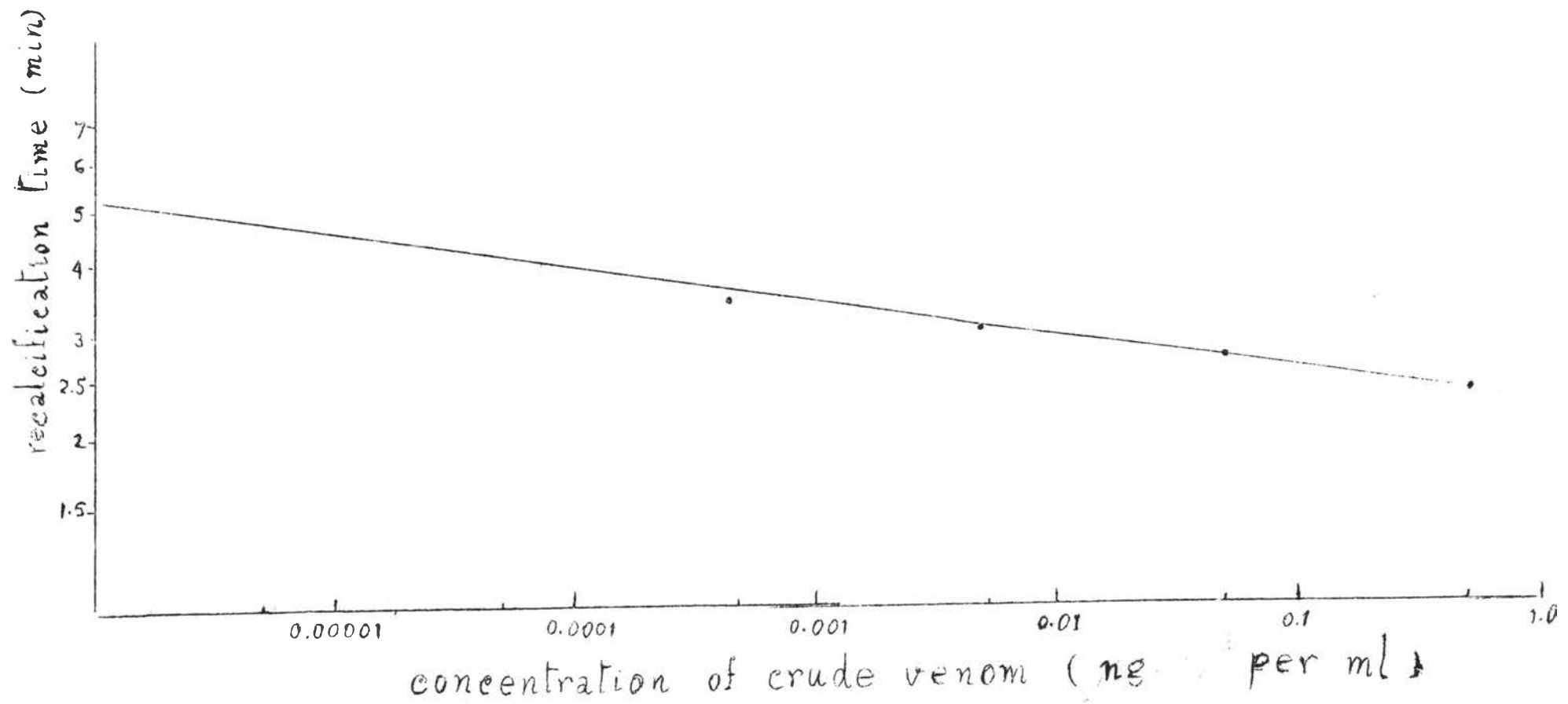
อย่างไรก็ดี ขอนาสังเกตซึ่งได้จากผลของการวัด activity ของการ  
ช่วยให้ออกแข็งตัวในพินูที่ยังไม่แยก คือ พินูแนวเขาซึ่งมีความเข้มข้นสูงกว่า ๑ ng  
ต่อ มล. ซึ่งใช้วัด activity ของการช่วยให้ออกแข็งตัว ตามหัวข้อ จะกลับ  
แสดงสมบัติของการต้านการแข็งตัวของเลือด คือ ยิ่งเพิ่มความเข้มข้นของพินูแนวเขา  
ที่ยังไม่แยกให้สูงขึ้นกว่า ๑ ng ต่อ มล. แล้ว recalcification time เพิ่มขึ้น  
และจะโค coagulum ซึ่งใสกว่าปกติ ซึ่งตรงกันข้ามกับพินูส่วนที่ V ซึ่งมีคุณสมบัติ  
ในการช่วยให้ออกแข็งตัวสูงนั้น ถ้าความเข้มข้นสูงกว่า ๑ ng ต่อ มล. แล้ว  
จะต่ำไปปลาสมมาแข็งตัวเร็วมาก จนไม่สามารถจะอ่าน recalcification time  
จากเครื่องธรรมดาชนิดกราฟได้

ผลที่ได้จากกราฟมาตรฐาน ซึ่งใช้คำนวณ activity ของการช่วย  
ให้ออกแข็งตัวตามรูปที่ ๒ จะเห็นโค พินูแนวเขาที่ยังไม่แยกเมจะอยู่ในสภาพของ  
สารละลายที่เจือจางมาก ก็ยังแสดง activity นี้ และคงทำให้พินูแนวเขาที่ยัง  
ไม่แยกจางลงจนมีความเข้มข้น 0.000,000,00๗ ng ต่อ มล. (คือ เจือจางถึงประมาณ  
๑ : ๑๐<sup>๘</sup>) จึงจะหมด activity ของการช่วยให้ออกแข็งตัว

ตารางที่ ๑๘ activity ของการช่วยให้เลือดแข็งตัวในพียงแต่ละส่วนที่แยกได้ และพียงที่ยังไม่แยก  
กำหนดให้ specific activity ของพียงที่ยังไม่แยก มีค่า ๑.๐๐๐๐๐

venom fraction	cong of the assayed venom (ng/ml)	recalcification time (min)			corresponding activity (ng/ml)	specific activity	recovery of activity in each fraction (%)
		1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	mean			
(0.15 M NaCl)	0.00	5.250	5.000	5.125	0.000002	0.00000	
I	1.00	3.375	3.250	3.312	0.00400	0.00400	0.1
II	1.00	3.375	4.500	3.938	0.00032	0.00032	0
III	1.00	4.000	5.000	4.500	0.00004	0.00004	0
IV	1.00	4.375	4.125	4.250	0.00009	0.00009	0
V	0.01	2.750	2.765	2.685	0.07400	7.40000	237.5
VI	1.00	2.250	2.000	2.125	0.11500	0.11500	0.9
total recovery							238.5

รูปที่ ๖ กราฟมาตรฐานสำหรับคำนวณหา activity ของการช่วยให้เลือดแข็งตัว





ตารางที่ ๑๕ เปรียบเทียบปริมาณและคุณสมบัติทาง ๆ ของพืชมุ่ยแต่ละส่วนที่แยกไคกับพืชมุ่ยที่ยังไม่แยก โดยกำหนดค่าให้ปริมาณและคุณสมบัติทาง ๆ ของพืชมุ่ยแมวเขาคือ ยังไม่แยกมีค่า ๑๐๐ และ activity ทาง ๆ นั้น เปรียบเทียบเป็นผลรวมของ activity ค่อนข้างหนึ่งของพืชมุ่ย

คุณสมบัติ	พืชมุ่ยส่วนที่ พืชมุ่ยที่ยัง ไม่แยก	พืชมุ่ยส่วนที่					
		I	II	III	IV	V	VI
ปริมาณโปรตีน	100	14.2	6.0	5.3	26.6	32.1	7.6
ความเป็นพิษ (LD <sub>50</sub> )	100	18	40	24	27	21	9
นอนสเปธิฟิก อัลคาไลน์ โมโนฟอสฟาเทส	100	159	140	56	81	23	102
5'-นิวคลีโอไทเดส	100	927	66	511	235	1,267	790
เฮกโซนิวคลีเอส	100	216	1	32	79	3	5
คีออกซีโรโบนิวคลีเอส	100	114	54	266	179	0	0
ฟอสโฟไลเปส เอ	100	36	73	107	34	9	14
ฟอสโฟไลเปส บี	100	40	100	20	180	240	120
อะมิโนเอซิก เอสเทอเรส	100	7	0	0	2	238	3
เปปไทเดส	100	6	4	6	1	39	24
โปรตีนเนส	100	189	94	100	33	83	78
อะมิโนเอซิก ออกซิเดส	100	93	43	0	55	183	104
ไฮยาลูโรนเนส	100	71	71	89	3	11	29
การช่วยให้เลือดแข็งตัว	100	0.1	0	0	0	740	11.5

ตารางที่ ๑๖ เปรียบเทียบ recovery ของคุณสมบัติต่าง ๆ ของพืชมุขแต่ละส่วนที่  
แยกได้ กับพืชมุขที่ยังไม่แยก โดยกำหนดให้คุณสมบัติรวมของพืชมุขที่นำไป  
แยกทั้งหมด มีค่า ๑๐๐

พืชมุขส่วนที่ คุณสมบัติ	พืชมุขที่ยัง ไม่แยก	I	II	III	IV	V	VI
ความเป็นพืชมุขรวม	100.0	2.6	2.4	1.3	7.3	6.8	0.7
นอสนเปซิปิด อัลตาไลน์ โมโนฟอสฟา เทส	100.0	22.6	8.4	3.0	21.5	7.4	7.8
5' - นิวคลีโอไทด์	100.0	121.6	4.0	27.1	62.5	396.7	61.0
เอกโซนิวคลีโอไซด์	100.0	30.7	0.1	1.7	21.0	1.0	0.2
ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไซด์	100.0	16.2	3.2	14.1	47.6	0	0
ฟอสโฟไลเปส เอ	100.0	5.1	4.4	5.7	9.0	2.9	1.1
ฟอสโฟไลเปส บี	100.0	5.7	6.0	1.1	47.9	77.0	9.1
อะมิโนเอซิด เอสเทอร์	100.0	1.0	0	0	0.5	76.4	1.8
เพปไทด์	100.0	0.8	0.2	0.3	0.3	12.5	1.8
โปรตีน	100.0	26.8	5.6	5.3	8.8	26.6	1.4
อะมิโนเอซิด เอสเทอร์	100.0	13.2	2.6	0	14.6	58.7	7.9
ไฮยาลูโรน	100.0	10.0	4.3	4.7	0.8	3.5	2.2
การช่วยให้เลือดแข็งตัว	100.0	0.1	0	0	0	237.5	0.9

พ.ว.  
๒๕๔๕  
เลขทะเบียน..... 19๔๖  
วันที่ ๒๐ เดือน..... ๕๑ พ.ศ. ๒๕๔๕