

โครงการ การเตรียมเลคตินบริสุทธิ์จากปูทะเลไทยและการพัฒนาเทคนิค และการประยุกต์ใช้เพื่อการตรวจสอบและการวินิจฉัยโรคมะเร็ง

บทคัดย่อ

รายงานนี้เป็นการศึกษาวิจัย แยก และทำให้บริสุทธิ์ของสารชีวโมเลกุลชนิดเลคติน (lectin) จากปูทะเลไทย (*Scylla serrata*) และนำไปพัฒนาใช้เพื่อการตรวจวัดสารบ่งชี้โรคมะเร็ง (tumor marker) เพื่อเป็นการตรวจเบื้องต้น จากการศึกษพบว่า มีเลคตินที่มีแยกได้โดยวิธี affinity chromatography มีขนาดประมาณ 70 kDa มีความจำเพาะที่จับได้กับสารชีวโมเลกุล ชนิด sialoglycoconjugates เช่น bovine submaxillary mucin (BSM) และ colominic acid แต่ไม่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบอื่นๆ ที่มีประจุลบเช่นเดียวกัน โดยวิธี biotin labelling technique จากสารเลคตินที่บริสุทธิ์ที่แยกได้นี้สามารถนำไปศึกษา และพัฒนาวิธีการตรวจวัด sialoglycoconjugates ในซีรัม ทั้งคนปกติและคนที่เป็นมะเร็ง ซึ่งพบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ ยังได้นำสารเลคตินที่เตรียมได้มาทำการแยกให้บริสุทธิ์เพิ่มเติมโดยวิธี mini-preparative gel electrophoresis และ electroblotting บน PVDF membrane และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของกรดอะมิโน และการเรียงตัวของกรดอะมิโนที่ N-terminal ทำให้ทราบถึงโครงสร้างบางส่วนของเลคตินนี้ได้

The Purification of Lectin from Thai Marine Crabs and Its Technical Development for Application in Screening and Diagnosis of Cancer

Abstract

This is a report for a isolation and purification of lectin from Thai marine crab (*Scylla serrata*) and its use for the development as a tumor marker for screening test for cancer. It was found that the purified lectin by affinity column chromatography using bovine submaxillary mucin shows the molecular weight of 70 kDa. The specific activity of this purified lectin by biotin labelling technique has been studied. It reacts against sialoglycocojugates such as BSM, fetuin and colominic acid but does not react with other negative charge containing biomolecules. This purified lectin has been used to develop the assay for quantitation of sialoglycoconjugates in serum of normal healthy person and cancer which has been found statistically significantly difference. The ultrapurification was further evaluated by using technique of minipreparative gel electrophoresis and electroblotting on PVDF membrane for analysis of amino acid composition and N-terminal sequence. The amino acid composition and 10 amino acid residues of the N-terminal has also bee deduced and reported.