Study on rubber (Hevea brasiliensis) latex proteins possibly involved in latex vessel plugging

Chutima Kongjaroon

T
เลขหมู่ QK753.L37 C48 1991
เลขทะเบียน 039285
16 มี.ค. 2535

Master of Science Thesis in Biological Sciences

Prince of Songkla University

1992

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาโปรตีนในน้ำยางที่อาจมีผลต่อการอุดตันของท่อน้ำยาง

ผู้เขียน นางสาวชุติมา คงจรูญ

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ

ปีการศึกษา 2534

บทคัดย่อ

ลูทอยดิคเลคตินเป็นเลคตินที่จำเพาะกับกรดไซอะลิคสามารถเตรียมได้จาก บี-ซีรั่มในน้ำยางจากต้นยางพาราโดยวิธีตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ตกตะกอนด้วยด่างและผ่านคอลัมน์ Bio-Gel P-60 ลูทอยดิคเลคตินจัดเป็นไกลโคโปรตีนซึ่งประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 5.38% โดยน้ำหนัก น้ำหนักโมเลกุลรวมของลูทอยดิคเลคตินเท่ากับ 38,000 ดาลตันโดยวิธีเจลฟิลเตรชั่น ซึ่งประกอบด้วยหน่วยย่อย 2 หน่วย คือ 25,600 และ 15,700 ดาลตัน ลูทอยดิคเลคติน สามารถเหนี่ยวนำการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดงของคน, แพะ, แกะ, กระต่าย, หนู, ห่านและไก่ และพบว่าเลคตินชนิดนี้สามารถทนต่อความร้อน และต้องอาศัยแคลเซี่ยมอิออนในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง การเหนี่ยวนำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงจะถูกยับยั้งโดย N-acetylneuraminic acid, น้ำตาล D-glucosamine, fetuin และ α_1 - acid glycoprotein จากการศึกษาพบว่าลูทอยดิคเลคตินมีความจำเพาะกับไกลโคโปรตีนที่สกัดจากชิ้นเนื้อมะเร็งบางชนิด ระดับของลูทอยดิคเลคตินจากต้นยางที่ให้ผลผลิตสูง และต่ำ จะมีความสัมพันธ์กับผลผลิตของต้นยาง กล่าวคือ ต้นที่ให้ผลผลิตสูง จะมีลูทอยดิคเลคตินในปริมาณสูง และต้นที่มีผลผลิตต่ำจะมีลูทอยดิคเลคตินในปริมาณต่ำ

อะซิดิคและเบซิคไกลโคโปรตีนที่มีความจำเพาะกับลูทอยดิคเลคตินพบได้ใน บี-ซีรั่ม สำหรับอะซิดิคลูทอยดิคเลคตินบายดิงโปรตีนสามารถทำบริสุทธิ์ได้โดยการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้น 30% ผ่านคอลัมน์ Bio-Gel P-60 และ DEAE-cellulose ส่วนเบซิคลูทอยดิคเลคตินบายดิงโปรตีนสามารถทำบริสุทธิ์ได้โดยการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้น 30-70% ผ่านคอลัมน์ Bio-Gel P-60 และ CM-cellulose อะซิดิคลูทอยดิคเลคตินบายดิงโปรตีนมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ 3.41% โดยน้ำหนัก น้ำหนักโมเลกุลจากเจลฟิลเตรชั่นเท่ากับ 27,500 ดาลตัน และ 24,500 ดาลตัน โดยวิธี เอส ดี เอส โพลีอคริลาไมด์ เจล อิเลคโตรโฟริซีส เบซิคลูทอยดิคเลคตินบายดิงโปรตีน มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ 4.57% โดยน้ำหนัก มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ

33,900 ดาลตัน โดยวิธีเจลฟิวเตรชันและ 30,000 ดาลตัน โดยวิธี เอส ดี เอส โพลีอคริลาไมด์ เจล อิเลคโตรโฟริซิส จากการวัดระดับของไกลโคโปรตีนทั้งสองชนิดในต้นยางที่ให้ผลผลิตสูง และต่ำ พบว่า ปริมาณของไกลโคโปรตีนในต้นที่มี ผลผลิตสูงจะมีไกลโคโปรตีนในระดับต่ำ ส่วนในต้นที่มีผลผลิตต่ำจะมีไกลโคโปรตีนในระดับสูง

Thesis title Study on rubber (Hevea brasiliensis) latex proteins possibly involved in latex vessels plugging

Author Miss Chutima Kongjaroon

Major Biological Sciences

Academic year 1991

ABSTRACT

Lutoidic lectin is a sialic acid-binding protein. It can be purified from the B-serum prepared from bottom fraction of centrifuged latex of Hevea brasiliensis. The purification procedures included ammonium sulfate fractionation, alkaline precipitation and Bio-Gel P-60 column chromatography. Lutoidic lectin is a glycoprotein, containing 5.38% of carbohydrate by weight. It has a molecular weight of approximately 38,000 daltons as determined by gel filtration. It consists of two subunits of M_r 25,600 and 15,700 daltons. The lutoidic lectin agglutinates various types of erythrocytes isolated from human, sheep, goat, rabbit, mouse, goose, and chicken blood. The hemagglutination requires the presence of calcium ions for activity. Positive hemagglutination can be observed after prior treatments of lutoidic lectin with heat. The hemagglutination activity is inhibited by N-acetylneuraminic acid, D-glucosamine, fetuin and α_1-acid glycoprotein. Lutoidic lectin has binding specificities toward certain types of human glycoprotein isolated from tumor tissue. The levels of lutoidic lectin in high-, and low-yielding rubber trees are correlated with rubber yield.

Lutoidic lectin binding specificity was found with both acidic and basic glycoproteins in the B-serum prepared from latex bottom fraction. The acidic type of lutoidic lectin binding protein

(acidic LLBP) can be purifed from the B-serum by ammonium sulfate fractionation (0-30% cut), Bio-Gel P-60 and DEAE- cellulose column chromatography. Similarly, ammonium sulfate fractionation (30-70% cut), Bio-Gel P-60, and CM- cellulose column chromatography are required procedures for the purification of basic lutoidic lectin binding protein (basic LLBP). The carbohydrate contents of 3.41% and 4.57% by weight were detected for acidic LLBP and basic LLBP, respectively. The molecular weights of acidic and basic LLBPs, determined by gel filtration, are 27,500 and 33,900 daltons, respectively. Each LLBP contains a single protein subunit since the M_r of 24,500 and 33,000 daltons are obtained, under SDS-PAGE, for acidic and basic LLBPs, respectively. The level of glycoproteins in high-, and low- yielding rubber trees are inversely correlated with rubber yield.