สารบาญ

	หน้า
คำขอบคุณ	ค
บทคัดย่อ	ง
Abstract	จ
รายการตารางประกอบ	ฎ
รายการรูปประกอบ	ฑ
อักษรย่อ	ฒ
1. บทนำ	1
1.1 ความหมายของเลคติน	1
1.2 ประวัติของเลคติน	1
1.3 แหล่งของเลคติน	3
1.4 การตรวจหาเลคติน	5
1.5 โครงสร้างโมเลกุลของเลคติน	7
1.6 สมบัติของเลคติน	12
1.6.1 การเกาะกลุ่มของเซล	12
1.6.2 ความจำเพาะกับน้ำตาล	16
1.6.3 การตกตะกอนโมเลกุลที่มีคาร์โบไฮเดรต	20
1.6.4 การกระตุ้นการแบ่งเซล	20
1.7 เทคนิคการทำเลคตินให้บริสุทธิ์	21
1.8 ประโยชน์ของเลคติน	23
1.9 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	24
1.10 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	28

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

	หน้า
2. อุปกรณ์และวิธีทดลอง	29
2.1 เครื่องมือ	29
2.2 สารเคมี	30
2.3 พืชที่ใช้ศึกษาเลคติน	32
2.4 เลือดที่ใช้ทดสอบเลคติน	37
2.5 การสกัดเลคติน	37
2.6 การไดอะไลซ์	38
2.7 การวัดความขุ่นและความเป็นกรดด่าง	39
2.8 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford	39
2.9 การวิเคราะห์ปริมาณเลคตินโดยทดสอบความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม	42
2.10 การทดสอบความต้องการโลหะอิออนของเลคติน	45
2.11 การปรับปรุงเม็ดเลือดแดงด้วยนิวรามินิเดส	47
2.12 การปรับปรุงเม็ดเลือดแดงด้วยทริปซิน	47
2.13 การทดสอบการยับยั้งการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม	48
2.14 การทดสอบการจับของเลคตินกับเม็ดเดกซ์ตราน	53
2.15 การทดสอบการจับของเลคตินกับเม็ดอะกาโรส	56
3. ผลการทดลอง	57
3.1 สมบัติทางกายภาพของสิ่งที่สกัดได้จากพืชตัวอย่าง	57
3.1.1 ปริมาตร	57
3.1.2 ความเป็นกรดด่าง	57
3.1.3 ความขุ่น	57
3.2 ปริมาณโปรตีนในสิ่งที่สกัดได้จากพืชตัวอย่าง	59
3.2.1 การศึกษาปริมาณ Coomassie ที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	59

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

	หน้า
3.2.2 การศึกษาเสถียรภาพของสารละลาย Coomassie	59
3.2.3 ปริมาณโปรตีนในสิ่งที่สกัดได้ทั้งก่อนและหลังการไดอะไลซ์	62
3.3 เลคตินในสิ่งที่สกัดได้จากพืชตัวอย่าง	62
3.3.1 การตรวจพบเลคตินในพืชตัวอย่าง	62
3.3.2 ความจำเพาะต่อหมู่เลือดของเลคติน	63
3.3.3 ปริมาณเลคตินในสิ่งที่สกัดได้ทั้งก่อนและหลังการไดอะไลซ์	63
3.4 ผลของโลหะอิออนต่อการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มของเลคติน	66
3.5 เลคตินที่ทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงซึ่งปรับปรุงด้วยนิวรามินิเดส	68
3.6 เลคตินที่ทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงซึ่งปรับปรุงด้วยทริปซิน	70
3.7 ความจำเพาะของเลคตินต่อชนิดของคาร์โบไฮเดรต	72
3.7.1 เลคตินจากขนุน	72
3.7.2 เลคตินจากคำบูชา	72
3.7.3 เลคตินจากราชมาษ	75
3.7.4 เลคตินจากถั่วแปบ	75
3.7.5 เลคตินจากถั่วยาง	75
3.7.6 เลคตินจากกวาวเครือ	79
3.7.7 เลคตินจากถั่วลาย	82
3.7.8 เลคตินจากไมยราบยักษ์	82
3.7.9 เลคตินจากเครือเขาปู้	82
3.7.10 เลคตินจากถั่วแจ๊คเปรียบเทียบกับเลคตินจากถั่วยางและเลคตินจากถั่วแปบ	83
3.8 การจับเม็ดเดกซ์ตรานของเลคตินที่จับจำเพาะกับกลูโคส	85
3.9 การจับเม็ดอะกาโรสของเลคตินที่จับจำเพาะกับกาแลคโตส	87

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

	หน้า
4. วิจารณ์	90
4.1 การศึกษาเลคตินจากพืช	90
4.2 น้ำตาลที่จับจำเพาะกับเลคติน	91
4.2.1 เลคตินจากชนุน	93
4.2.2 เลคตินจากคำบูชา	95
4.2.3 เลคตินจากถั่วราชมาษ	96
4.2.4 เลคตินจากกวาวเครือ	98
4.2.5 เลคตินจากถั่วแปบ	99
4.2.6 เลคตินจากถั่วยาง	100
4.3 เลคตินร่วมในสิ่งที่สกัดจากพืช	102
4.4 แนวคิดในการเลือกทำเลคตินให้บริสุทธิ์ต่อไป	103
เอกสารอ้างอิง	104
ประวัติการศึกษา	109
ผลงานที่ได้รับการตีพิมพ์	110

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รายการตารางประกอบ

ตาราง		หน้า
1.1	ตัวอย่างของพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ที่มีเลคติน	4
1.2	ปริมาณโลหะอิออนในเลคตินธรรมชาติ และเลคติน ที่นำโลหะอิออนออกโดยการไดอะไลซ์	9
1.3	เลคตินที่จับจำเพาะกับหมู่เลือดของคน	13
1.4	การแบ่งกลุ่มของเลคตินโดยอาศัยชนิดของน้ำตาลที่ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง	17
1.5	ตัวอย่างของตัวดูดซับที่ใช้ในการทำเลคตินให้บริสุทธิ์	22
1.6	ข้อดีและข้อเสียในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีต่าง ๆ	27
2.1	รายชื่อและชนิดของพืชที่ใช้ศึกษาเลคติน	33
2.2	วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	40
2.3	การเตรียมสารละลายน้ำตาลสำหรับทดสอบการยับยั้งการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม	49
2.4	การทดสอบการจับของเลคตินกับเม็ดเดกซ์ตราน	55
3.1	สมบัติทางกายภาพ ปริมาณโปรตีนและเลคตินในสิ่งที่สกัดได้จากพืชตัวอย่าง	58
3.2	ปริมาณเลคตินและปริมาณโปรตีนในสิ่งที่สกัดได้จากพืชที่ตรวจพบเลคติน	64
3.3	ผลการเติม Ca^{+2} Mg^{+2} และ Mn^{+2} ลงในสิ่งที่สกัดได้จากพืชที่ตรวจไม่พบเลคติน	67
3.4	ความสามารถของเลคตินในการทำให้เม็ดเลือดแดงที่ปรับปรุงด้วยนิวรามินิเดสแล้วเกาะกลุ่ม	69
3.5	ความสามารถของเลคตินในการทำให้เม็ดเลือดแดงที่ปรับปรุงด้วยทริปซินแล้วเกาะกลุ่ม	71

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง		หน้า
3.6	ความสามารถของน้ำตาลในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงโดยเลคตินจากขนุน	73
3.7	ความสามารถของน้ำตาลในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงโดยเลคตินจากคำบูชา	74
3.8	ความสามารถของน้ำตาลในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงโดยเลคตินจากราชมาษ	76
3.9	ความสามารถของน้ำตาลในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงโดยเลคตินจากถั่วแปบ	77
3.10	ความสามารถของน้ำตาลในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงโดยเลคตินจากถั่วยาง	78
3.11	ความสามารถของน้ำตาลในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงที่ปรับปรุงด้วยนิวรามินิเดส สำหรับเลคตินจากกวาวเครือและเลคตินจากถั่วลิสง	80
3.12	ความสามารถของน้ำตาลในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงที่ปรับปรุงด้วยทริปซิน สำหรับเลคตินจากกวาวเครือและเลคตินจากถั่วเหลือง	81
3.13	ความสามารถของน้ำตาลในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงโดยเลคตินจากถั่วแจ๊ค เลคตินจากถั่วยาง และเลคตินจากถั่วแปบ	84
3.14	การจับเม็ดเดกซ์ตรานของเลคตินจากถั่วแจ๊ค ถั่วยาง และถั่วแปบ	86
3.15	การจับเม็ดอะกาโรสของเลคตินจากเมล็ดขนุน เมล็ดคำบูชา ถั่วราชมาษ และหัวกวาวเครือ	88
4.1	ความจำเพาะของเลคตินต่อชนิดของคาร์โบไฮเดรต	92

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

รายการรูปประกอบ

รูป		หน้า
1.1	ผลของเวลาและความเข้มข้นของ Con A ต่อการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง	6
1.2	ภาพวาดแสดงโครงสร้างโมเลกุลของ Con A	11
1.3	กลไกการเกาะกลุ่มของเซลโดย Con A	15
1.4	สูตรโครงสร้างของ Coomassie Brilliant Blue G-250	26
2.1	ส่วนของพืชชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ศึกษาเลคติน	35
2.2	กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	41
2.3	การเจือจางสิ่งที่สกัดได้จากพืชในไมโครไตเตอร์เพลท	43
2.4	การทดสอบความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม	44
2.5	การเจือจางสารละลายน้ำตาลในไมโครไตเตอร์เพลท	51
2.6	การทดสอบการยับยั้งการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม	52
3.1	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนกับค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใช้น้ำยาที่มีความเข้มข้นของ Coomassie Brilliant Blue G-250 ต่างกัน	60
3.2	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนกับค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใช้สารละลาย Coomassie ที่มีอายุต่างกัน	61
4.1	โครงสร้างโมเลกุลของปลาย α-D-galactopyranosyl	93
4.2	โครงสร้างโมเลกุลของปลาย N-acetyl- α-D-galactosamine	96
4.3	โครงสร้างโมเลกุลของปลาย α-D-mannosyl และ α-D-glucosyl	99

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

อักษรย่อ

ชม.	ชั่วโมง
°ซ	องศาเซลเซียส
น.น.	น้ำหนัก
มก.	มิลลิกรัม
มล.	มิลลิลิตร
AU	Absorbance unit
BSA	Bovine serum albumin
GalNAC	N-acetyl-D-galactosamine
M	Molar
mM	Millimolar
µl	Microliter
PBS	Phosphate buffer saline
TBS	Tris buffer saline
Tris	Tris (hydroxymethyl) methylamine
WGA	Wheat germ agglutinin
W/V	Weight/Volume

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved