Thesis Title Analysis of Sialic Acid in Glycoprotein

by Enzyme-Linked Lectin Assay

Author. Miss Wichuda Chittangkura

M.S Biochemistry

Examining Committee

Assoc Prof. Dr.Maitree Suttajit Chairman
Assist. Prof. Dr.Lertlakana Bhoopat Member
Dr.Sukanya Linpisarn Member
Assist. Prof. Dr.Vichai Wongchai Member

Abstract

Sialic acid, an aminosugar, has been found tumor marker increased in serum from cancer patients in form of sialoglycoproteins. It was reported the the component of sialic acid or sialoglycoproteins also increased on cancer cell membrane surface. In this thesis, serum sialic acid content in cancer patients was semiquantitatively compared to that from the normal healthy persons by assaying their inhibitory action as HAI titer -1 values on hemagglutination between human red blood cells, group O, and influenza virus or lectins from wheat germ, pea seeds, lentil seeds and the hemolymph of horse shoe crab Tachypleus gigas. The serum samples were warmed at 80'C for 1 hr before the HAI assay. It was resulted that after heat treatment serum gave significantly higher HAI titer -1 compared to the untreated samples, and especially in case patients; inhibitory effect of serum from cancer influenza-virus hemagglutination rose up about 8 times. By heat treatment, the polymerization of serum glycoproteins

occurred. The larger inhibitory molecules could have more binding affinity to lectins than the smaller ones. It was also found that the HAI titer value of cancer serum samples were significantly higher than those of normal controls, and that the HAI titer values were related to sialic acid concentration correspondingly. It is interesting that, influenza virus and the lectin from wheat germ, and horse shoe crab hemolymph which can specifically bind to sialic acid, gave remarkable HAI titer levels higher than those of pea lectin and lentil lectin. These two latter lectins were specific only to D-glucose and D-mannose.

From the tissue staining study on tissues of breast cancer tissue and cervix cancer were used. By using HRP-TGA conjugates in the staining, it was resulted that cancer cells could be stained with more intensity of brown lining on their cell surface than that of normal cells. It was therefore suggested that the content of sialoglycoprotein on cancer cell membrane was higher than that of normals. However, the positive staining in cancer cells was quiteweak. This may be due to the too low concentration of conjugated-lectin. Besides, the binding affinity of the conjugated-lectin to sialic acid on cell surface may be distinctly reduced compared to its native form.

In conclusion, it is possible and suitable to apply lectins from natural sources for the estimation of sialic acid levels in serum and the demonstration of sialoglycoproteins on both normal and cancer cells.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การวิเคราะห์กรดไซอาลิก ในกลัยโคโปรตีน โดยวิธี เอ็นไซม์ - ลิงค์ เลคติน แอสเสย์

ชื่อผู้เขียน

นางสาว วิชชุดา จิตตางกูร

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

ชีวเคมี

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

รศ.ดร. ไมตรี สุทธจิตต์ ประธานกรรมการ
ผช.พ.ญ. เลิศลักขณา ภู่พัฒน์ กรรมการ
ดร. สุกัญญา ลินพิศาล กรรมการ
ผช.ดร. วิชัย วงศ์ไชย กรรมการ

บทคัด ย่ อ

กรดไขอาลิกิเป็นน้ำตาลชนิดหนึ่งที่บ่งซึ้ภาวะโรกมะเร็ง และมีปริมาณเพิ่ม สูงขึ้นในซีรั่มผู้ป่วยโรกมะเร็งในรูปของ สารประกอบไขอาโลกลัยโลโปรตีน เมื่อ เปรียบเทียบกันในซีรั่มของคนสุขภาพปกติ มีรายงานว่า กรดไขอาลิก และกลัยโล-โปรตีนมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นบนเยื่อหุ้มเซลล์มะเร็งด้วยในวิทยานิพนธ์นี้ได้ทำการศึกษา ปริมาณ กรดไขอาลิก ในซีรั่มผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่าง ๆ เปรียบเทียบกันในซีรั่มของคน สุขภาพปกติ โดยอาศัยกวามสามารถในการยับยั้งการเกิด ฮีแมกกลูติเนชั่น ในรูป เอชเอไอไตเตอร์ ระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงของคนหมู่โอ กับเชื้อไวรัสใช้ หวัดใหญ่ และเลกตินจากวีทเจอร์ม, ถั่วลันเตา, ถั่วเลนทิล และจากเลือดแมงคา ทะเล ชนิด ทาดีปีอุส ทีกัส (Tachypleus gigas) ได้นำเอาตัวอย่างซีรั่มที่จะ ที่กษามาอุ่นที่ 80°C 1 ชม. ก่อนนำไปวัดค่าเอชเอไอไตเตอร์ พบว่าการอุ่นซีรั่ม ก่อนช่วยให้ค่าเอชเอไอไตเตอร์ มีค่าสูงขึ้นจากเดิมหลายเท่า โดยเฉพาะจาก ซีรั่มผู้ป่วยมะเร็งสามารถยับยั้งฮีแมกกลูติเนชั่น โดยเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ได้มากที่สุด ถึง 8 เท่า ทั้งนี้เนื่องจาก กวามร้อนทำให้เกิดปฏิกิริยา โพลีเมอร์ไรเซชั่นของ กลัยโลโปรตีนในซีรั่มโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ขึ้นจะช่วยให้การจับอย่างจำเพาะเจาะจง กับเลกดินได้ดีมากกว่าโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ขึ้นจะช่วยให้การจับอย่างจำเพาะเจาะจง กับเลกดินได้ดีมากกว่าโมเลกุลที่มีขนาดเล็ก ผลปรากฏว่าค่าเอชเอไอไตเตอร์ ที่ ที่

วัดได้จากซีรั่มผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่างๆ สูงกว่าค่าที่ได้จากซีรั่มของคนสุขภาพปกติอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติและมีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของ กรดไซอาลิคในซีรั่มผู้ ป่วยเป็นที่สังเกตว่าเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ และเลคตินจากวีทเจอร์ม, และเลือดจาก แมงดาทะเล จึงมีความจำเพาะเจาะจงต่อกรดไซอาลิค ให้ค่าเอชเอไอไตเตอร์ สูงกว่าที่ได้จากเลคตินจากถั่วลันเตาและถั่วเลนทิล ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงกับ น้ำตาลกูลโคสและแมนโนสเท่านั้น

จากการศึกษาการตรวจพบน้ำตาลกรดไซอาลิกบนเยื่อหุ้มเพลล์ทั้งในเพลล์
ปกติและเซลล์มะเร็งชนิดมะเร็งเต้านม และมะเร็งปากมดลูก โดยการนำเลกตินที่
เชื่อมต่อทางเกมีกับเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสมาย้อมเซลล์ดังกล่าว พบว่า
เยื่อหุ้มเซลล์มะเร็งสามารถติดสีน้ำตาลเข้มและชัดเจนกว่าของเซลล์ปกติ แสดงให้
เห็นปริมาณไซอาโลกลัยโกโปรตีน บนเยื่อหุ้มเซลล์มะเร็งที่มีมากกว่าเซลล์ปกติ แต่
อย่างไรก็ตามการย้อมติดสีของเยื่อหุ้มเซลล์มะเร็งก็ยังให้สีจางกว่าที่ควรจะเป็น ทั้ง
นี้อาจจะ เนื่องมาจากปริมาณลวามเข้มข้นของเลกตินคอนจูเกตที่ใช้ ซึ่งมีค่าความ
เข้มข้นของโปรตีนน้อยเกินไป และคุณสมบัติของเลกตินที่ถูกคัดแปลงนั้นสามารถจับกับ
ผิวเซลล์น้อยลงกว่าเดิม

สรุปได้ว่า การนำผลิตภัณฑ์เลคตินจากแหล่งธรรมชาติมาประยุกต์ไว้ใน การวัดความแตกต่างของกลัยโคโปรตีน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของซีรั่ม และผิวเซลล์ ในผู้ป่วยมะเร็งและคนสุขภาพปกติ เป็นสิ่งที่เป็นไปได้ และเหมาะสมดี

ลิขสิทธิมหาวิทยาลัยเชียงใหม Copyright[©] by Chiang Mai University All rights reserved