

Thesis Title Purification of Lectin from Lotus Seeds and Development of Protein-bound Fucose Detection for Supporting Cancer Diagnosis

Author Ms. Weerawan Leewapongpian

Degree Master of Science (Biochemistry)

Thesis Advisory

Assistant Professor Dr. Siriwan Ong-chai Chairperson

Associate Professor Dr. Prachya Kongtawelert Member

ABSTRACT

Lectins are structurally diversified carbohydrate-binding proteins of nonimmune origin. Many lectins contain two or more sugar binding sites and can agglutinate cells and/or precipitate complex carbohydrate conjugates. One class of lectins of particular interest is that of the L-fucose binding lectins of *Lotus tetragonolobus*. Seeds of *Lotus tetragonolobus* contain isolectins which are considered O-blood group-specific.

It has been reported that there are changes in the glycosylation of serum proteins in cancer, and cell surface carbohydrates are modified upon malignant cell transformation, tumor cell differentiation, and metastasis. It has been found that there is an increase in fucosylation of proteins in cancer resulting in the elevation of serum protein-bound fucose in patients with malignant tumors.

The aim of this study was to purify the lucolectin from *Lotus tetragonolobus* by affinity chromatography. The purified lectin was then conjugated to biotin in order to using in ELISA-like assay for investigation the level of serum protein-bound fucose in normal and cancer cells. It was found that the purified lectin showed hemagglutination activity with human type O-blood group.

The biotin-conjugated lectin (B-lectin) was able to bind fucose-containing glycoprotein, such as mucin. An ELISA-like assay using the B-lectin as primary binding protein was successfully applied for determination the level of protein-bound fucose in human serum.

The results of investigation the protein-bound fucose in serum of cancer such as colon, prostate, cervix and breast were significantly different comparing to normal. Although the level of serum protein-bound fucose in some cancer such as lung, nasopharynx and rectum were not statistically different in comparison with normal, despite the mean values were likely to be elevated. Therefore, an ELISA-like assay technique using lotus seed lectin as primary binding protein was successful to quantitate protein-bound fucose in serum of cancer. The results also indicated that the serum protein-bound fucose could be able to use as marker for cancer.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ป่วยมะเร็งชนิดต่าง ๆ การทดลองพบว่าสารเลคตินที่แยกได้จากการผ่านคอลัมน์ที่มีสารเรซินเป็น fucose-agarose นี้พบว่า มีความสามารถในการจับกลุ่มกับเม็ดเลือดแดงสูง และเมื่อนำมาติดกับไบโอดีนยังสามารถจับได้กับไกลโคโปรตีนที่มีฟูโคสเป็นองค์ประกอบ เช่น mucin ได้ จึงพบว่าสามารถพัฒนาใช้ B-lectin นี้เป็น primary binding protein ในเทคนิค ELISA-liked assay เพื่อใช้ตรวจวัดปริมาณ protein-bound fucose ในซีรัมได้

จากการทดลองตรวจวัดปริมาณ protein-bound fucose ในซีรัม พบว่าค่าเฉลี่ยของระดับสาร protein-bound fucose มีปริมาณสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในซีรัมของมะเร็งลำไส้ใหญ่, มะเร็งต่อมลูกหมาก, มะเร็งปากมดลูก และมะเร็งเต้านมเมื่อเทียบกับคนปกติ อย่างไรก็ตามในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปอด, มะเร็งหลอดลม และมะเร็งลำไส้ใหญ่ แม้จะไม่พบว่ามีปริมาณสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ค่าเฉลี่ยที่วัดได้ยังพบมีแนวโน้มสูงกว่าคนปกติ ดังนั้นวิธี ELISA ที่พัฒนาขึ้นจากการใช้เลคตินซึ่งสกัดได้จากเมล็ดบัวนี้ จึงสามารถใช้ตรวจวัดปริมาณสาร protein-bound fucose ในซีรัมของผู้ป่วยโรคมะเร็งได้ ทำให้มีแนวโน้มความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาการตรวจวัดนี้ เพื่อใช้เป็นสารบ่งชี้ในผู้ป่วยโรคมะเร็งได้