นิพนธ์ต้นฉบับ

สมบัติของการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มของสารสกัดจากแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria* sp.

Hemagglutinating Properties of Aqueous Extract from Phytoplankton *Oscillatoria* sp.

คำสำคัญ (**Key word**) : Hemagglutinating, *Oscillatoria* sp.

Key words : Hemagglutinating, *Oscillatoria* sp.

จันทร์จรัส วัฒนะโชติ และธิดารัตน์ น้อยรักษา
สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง ชลบุรี 20131

Janjarus Watanachote and Thidarat Noiraksa
Institute of Marine Science Burapha University, Chonburi 20131, THAILAND
e-mail : janjarus@bims.buu.ac.th

Abstract

Lectins are proteins or glycoproteins which agglutinate cells and/or precipitate glycoconjugates and have specifics for carbohydrate structures. Determination of the lectin in phytoplankton, *Oscillatoria* sp. was performed by agglutination test of protein in crude extract against human ABO erythrocytes and rat erythrocytes. It was found that the protein extract from *Oscillatoria* sp. agglutinated only rat erythrocytes in 16 titer or 2,785 titer/mg protein. The hemagglutinating activity of aqueous extract from *Oscillatoria* sp. was stabilized at pH 7.4 - 12 and 4 - 40° C. The activity of the *Oscillatoria* sp. extract was not affected by addition of divalent cation, calcium, magnesium and manganese ion. In addition, determination of sugar specificity of the extract from *Oscillatoria* sp. by sugar inhibition test showed that the extract specifically bound N-acetyl-D-galactosamine and N-acetyl-D-glucosamine.

บทคัดย่อ

เลคตินคือโปรตีน หรือไกลโคโปรตีนที่จับจำเพาะกับคาร์โบไฮเดรต สามารถทำให้เซลล์เกาะกลุ่มและ/หรือตกตะกอนโมเลกุลที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบ จากการตรวจหาเลคติน ในสิ่งสกัดโปรตีนจาก *Oscillatoria* sp. โดยวิธีทดสอบความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงคนหมู่เอ บี โอ และเม็ดเลือดแดงสัตว์ ได้แก่ เม็ดเลือดแดงหนูแร็ท พบว่าสิ่งสกัดสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงหนูเกาะกลุ่มได้ 16 ไตเตอร์ หรือ 2,785 ไตเตอร์/มก. โปรตีน และความสามารถของสิ่งสกัดในการทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มมีความเสถียรที่ความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 7.4 - 12 และอุณหภูมิ 4 - 40 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังพบว่าการเกาะกลุ่มนี้ไม่ต้องการไดวาเลนต์แคทไอออน ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม และแมงกานีสไอออนเพื่อช่วยในการเกาะกลุ่ม จากการตรวจสอบชนิดน้ำตาลที่จับจำเพาะกับสิ่งสกัดโดยทดสอบการยับยั้งการเกาะกลุ่มด้วยคาร์โบไฮเดรต พบว่าสิ่งสกัดจาก *Oscillatoria* sp. จับจำเพาะกับ N-acetyl-D-galactosamine และ N-acetyl-D-glucosamine

บทนำ

เลคตินคือโปรตีน หรือไกลโคโปรตีนที่จับจำเพาะกับคาร์โบไฮเดรต และต้องไม่ได้สร้างจากระบบภูมิคุ้มกัน หรือไม่เป็นเอนไซม์เร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลงคาร์โบไฮเดรตที่จับอยู่ เลคตินสามารถทำให้เซลล์เกาะกลุ่มและ/หรือตกตะกอนโมเลกุลที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบได้ และการเกาะกลุ่มของเซลล์โดยเลคตินนั้นสามารถยับยั้งได้ด้วยน้ำตาลโมเลกุลเล็ก (Goldstein, 1980) ปัจจุบันได้มีการใช้เลคตินเป็นเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ และการแพทย์ เช่น การตรวจหมู่เลือด วิทยาภูมิคุ้มกัน การวิจัยมะเร็ง ชีววิทยาของเซลล์ การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ และการวิเคราะห์ทางชีวเคมี เป็นต้น เลคตินพบได้ในสิ่งมีชีวิตทุกประเภททั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ซึ่งได้มีการแยกและนำมาศึกษาคุณลักษณะ อย่างไรก็ตามการศึกษาเลคตินในประเทศไทย ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในพืชชั้นสูง และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง แพลงก์ตอนพืช หรือสาหร่ายเซลล์เดียวจึงเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่น่าจะนำมาศึกษาปริมาณและคุณสมบัติพื้นฐานของเลคติน เพราะแพลงก์ตอนพืชสามารถเพาะเลี้ยง และควบคุมให้มีการเจริญ หรือเพิ่มจำนวนให้มากขึ้นได้ในห้องปฏิบัติการ ข้อมูลที่ได้จากการทำวิจัยจะทำให้ได้แหล่งของเลคตินในประเทศไทยเพิ่มขึ้น รวมทั้งแนวทางในการทำเลคตินให้บริสุทธิ์ยิ่งขึ้น และศึกษาคุณลักษณะของเลคตินจากแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria* sp. ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

1. การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

นำหัวเชื้อ (stock culture) แพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria* sp. ที่แยกได้จากน้ำทะเลธรรมชาติบริเวณหาดบางแสน จังหวัดชลบุรี ใส่ในขวดเพาะเลี้ยงที่มีอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชสูตร BG-11 (Vonshak, 1986) ระดับความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ปริมาตร 500 มล. ให้อากาศตลอดเวลา และให้แสงสว่างด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ โดยมีชั่วโมงให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง และไม่ให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน แล้วย้ายลงอาหารสูตรเดิม เมื่อแพลงก์ตอนพืชเจริญเต็มที่แล้วกรองด้วยผ้ากรองขนาด 50 ไมโครเมตร แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำแพลงก์ตอนที่ได้ไปสกัดเพื่อวิเคราะห์หาเลคติน

2. การสกัดเลคตินจากแพลงก์ตอนพืช

ชั่งน้ำหนักแพลงก์ตอนพืชสด 4 กรัม สกัดด้วย 0.85% โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 20 มล. จากนั้นทำให้เซลล์แตกโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง เป็นเวลา 30 นาที แยกตะกอนโดยใช้เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลางด้วยความเร็ว 12,500 x g. เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้ส่วนใสเพื่อใช้ศึกษาต่อไป

3. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม (Hemagglutination test) ของสิ่งสกัดจากแพลงก์ตอนพืช (Sakamoto *et.al.*, 1996)

การทดสอบทำในแผ่นไมโครไตเตอร์ชนิด 96 หลุม ลักษณะก้นหลุมเป็นรูปตัววี เติม 0.85% โซเดียมคลอไรด์ลงในทุกหลุมๆ ละ 50 ไมโครลิตร และใช้สิ่งสกัดจากแพลงก์ตอนพืช 50 ไมโครลิตร ทำการเจือจางสิ่งสกัดตั้งแต่ 2 เท่า จนถึง 2^n เท่า เมื่อ n คือ จำนวนหลุม แล้วเติม 4% เม็ดเลือดแดงลงไปทุกหลุมๆ ละ 50 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง อ่านผลการทดลองเป็นค่าไตเตอร์ซึ่งเป็นค่าการเจือจางมากที่สุดที่เลคตินยังสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม

4. การทดสอบคุณสมบัติ

4.1 การทดสอบความเป็นกรด-ด่างต่อเสถียรภาพของสิ่งสกัด (Shiomi, 1980)

นำสิ่งสกัดจากแพลงก์ตอนพืชปริมาตร 2 มล. นำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ 0.1 โมลาร์ กรดไฮโดรคลอริค หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ ให้ได้ความเป็นกรด-ด่าง 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10 และ 11 หลังจากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำสิ่งสกัดทดสอบการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งมีเฉพาะสารละลายบัฟเฟอร์ที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างดังกล่าวแล้ว และตรวจสอบไม่พบการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

4.2 การทดสอบผลของความร้อนต่อเสถียรภาพของสิ่งสกัด

นำสิ่งสกัดจากแพลงก์ตอนพืช 2 มล. บ่มที่อุณหภูมิ 27, 37, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบกำหนดนำตัวอย่างแช่ในน้ำแข็ง จากนั้นนำสิ่งสกัดทดสอบการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

4.3 การทดสอบความต้องการโลหะไอออนของสิ่งสกัด

นำสิ่งสกัดจากแพลงก์ตอนพืชปริมาตร 1 มล. ใส่ในถุงไดอะไลซ์ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.4 มิลลิเมตร และน้ำหนักโมเลกุลคัดเลือก 12,000 - 14,000 ใช้คลิปปิดถุงให้แน่น และนำไปแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์ 10 มิลลิโมลาร์ Na_2-EDTA ใน 0.85% โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 2.5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คนเบาๆ เพื่อเร่งการกระจายตัวของสารโมเลกุลเล็ก เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและเปลี่ยนบัฟเฟอร์ 2 ครั้ง ได้สิ่งสกัดหลังไดอะไลซ์ จากนั้นนำสิ่งสกัดทดสอบความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม เมื่อเติมโลหะไอออนโดยใช้แมงกานีสคลอไรด์, แมกนีเซียมคลอไรด์หรือแคลเซียมคลอไรด์ลงในสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ทริส-ไฮโดรคลอริกที่มี 0.85% โซเดียมคลอไรด์บัฟเฟอร์ เรียกว่า ชุดทดสอบ และเมื่อไม่เติมโลหะไอออน เรียกว่า ชุดควบคุม ความเข้มข้นของโลหะไอออน ในขณะเกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงเท่ากับ 1.0 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบค่าไตเตอร์ของเลคตินในชุดทดสอบมากกว่าชุดควบคุมแสดงว่าเลคตินต้องการโลหะไอออนดังกล่าวในการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม

4.4 การทดสอบการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงโดยคาร์โบไฮเดรต

สารละลายน้ำตาลที่นำมาทดสอบการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงเตรียมที่ความเข้มข้น 1.2 โมลาร์ ได้แก่ N-acetyl-D-galactosamine, L-arabinose, D-fructose, L-fucose, D-galactosamine, D-galactose, D-glucosamine, D-glucose, D-maltose, D-mannose, D-melibiose, methyl-α-D-mannopyranoside, L-rhamnose, D-ribose, D-sorbitol, Sucrose, D-xylose สารละลายน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 0.8, 0.5, 0.33 และ 0.21 โมลาร์ ได้แก่ N-acetyl-D-glucosamine, α-Lactose, D-cellobiose และ D-raffinose ตามลำดับ

การทดสอบทำได้โดยเจือจางสารละลายน้ำตาลที่ต้องการทดสอบตั้งแต่ 2 เท่า จนถึง 2^n เท่า เมื่อ n คือ จำนวนหลุม เติมสิ่งสกัดที่เจือจางแล้วแต่ยังคงทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มได้ลงในทุกหลุมด้วยปริมาตรที่เท่ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เติม 4% เม็ดเลือดแดง ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง แล้วอ่านผลการทดสอบ

4.5 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนใช้วิธีของแบรดฟอร์ด (Bradford, 1976)

ผลการทดลอง

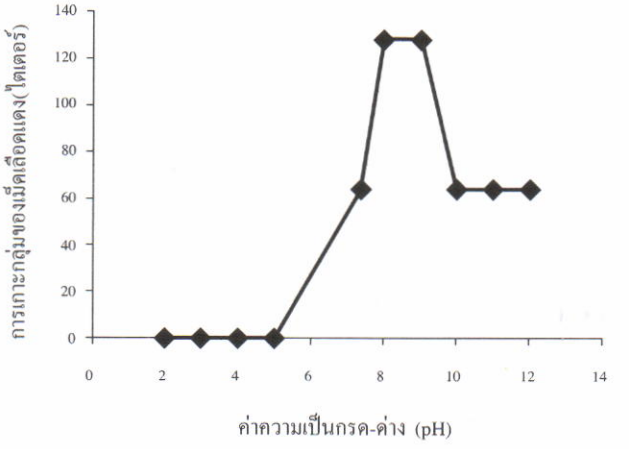
ความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มของสิ่งสกัดจาก *Oscillatoria* sp.

การสกัดแพลงก์ตอนพืชสดด้วย 0.85% โซเดียมคลอไรด์ในอัตราส่วน 1 : 5 (กรัม/มล.) แล้ววัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสิ่งสกัดได้ 7.0 และมีปริมาณโปรตีน 0.1149 มก./มล. เมื่อนำสิ่งสกัดจากแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria* sp. ทดสอบความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงคนหมู่เอ บี โอ และเม็ดเลือดแดงหนูแร็ทเกาะกลุ่ม พบว่า สิ่งสกัดไม่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงคนเกาะกลุ่มได้ แต่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงหนูเกาะกลุ่มได้ 16 ไตเตอร์ หรือมีค่าเท่ากับ 320 ไตเตอร์/มล. มีค่า Specific activity 2,785 ไตเตอร์/มก. โปรตีน และจากการนำสิ่งสกัดไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำลายสภาพธรรมชาติของโปรตีน แล้วนำสิ่งสกัดทดสอบการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงหนู พบว่า สิ่งสกัดที่ผ่านการต้มแล้วไม่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงหนูเกาะกลุ่มได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสิ่งสกัดจากแพลงก์ตอนพืชมีเลคตินอยู่ด้วย เพราะสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงหนูเกาะกลุ่มได้ และถูกทำลายสภาพธรรมชาติโดยความร้อน

คุณสมบัติของสิ่งสกัด

ความเป็นกรด-ด่าง ต่อเสถียรภาพของโปรตีนในสิ่งสกัด *Oscillatoria* sp.

เมื่อนำสิ่งสกัดจาก *Oscillatoria* sp. ไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก และโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้มีพีเอชอยู่ระหว่าง 2 - 12 แล้วทดสอบความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงหนูเกาะกลุ่มเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งเป็นสารละลายบัฟเฟอร์ที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง แล้วตรวจสอบไม่พบการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง พบว่าเมื่อสิ่งสกัดมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 8 - 12 จะทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มได้เท่ากับหรือใกล้เคียงกับสิ่งสกัดที่มีค่าพีเอช 7.4 คือ 64 ไตเตอร์ ในขณะที่สิ่งสกัดที่มีค่าพีเอชเป็นกรดไม่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มได้ ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ผลของความเป็นกรด-ด่างต่อความสามารถของสิ่งสกัดจาก *Oscillatoria* sp. ในการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม

ผลของอุณหภูมิต่อเสถียรภาพของสิ่งสกัดจาก *Oscillatoria* sp.

จากการบ่มสิ่งสกัดที่อุณหภูมิ 27 - 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ที่อุณหภูมิ 27 - 40 องศาเซลเซียส สิ่งสกัดยังทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มได้ 64 ไตเตอร์ ซึ่งเท่ากับชุดควบคุมที่บ่มสิ่งสกัดไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงเริ่มลดลง เมื่อบ่มสิ่งสกัดที่อุณหภูมิตั้งแต่ 50 - 90 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส สิ่งสกัดไม่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มได้ แสดงว่าสิ่งสกัดซึ่งเป็นโปรตีนได้เสียสภาพการทำงานที่อุณหภูมิสูงดังแสดงในภาพที่ 2

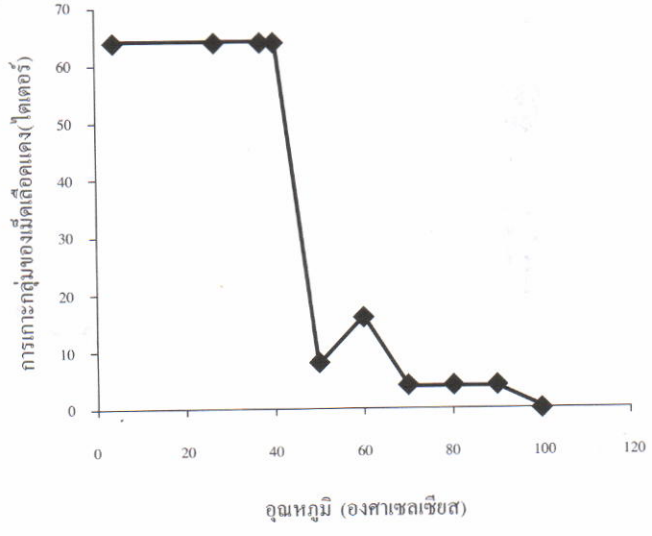
ในการศึกษาวิธีเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria* sp. สด ไว้เพื่อใช้ในการทดลองนั้น ได้เก็บแพลงก์ตอนพืชไว้ที่อุณหภูมิ -20 และ 4 องศาเซลเซียส พบว่าสิ่งสกัดจากแพลงก์ตอนที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มีเสถียรภาพคงที่ในช่วงระยะเวลา 2 สัปดาห์ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บแพลงก์ตอนไว้ได้นานเพียง 1 สัปดาห์ แต่ถ้าเป็นการเก็บสิ่งสกัดสามารถเก็บไว้นาน 3 สัปดาห์ โดยที่ความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มยังคงเท่าเดิม

ผลการทดสอบความต้องการโลหะไอออนของสิ่งสกัดจาก *Oscillatoria* sp.

การทดลองเติมโลหะไอออน 3 ชนิด คือ Ca^{2+}, Mg^{2+} และ Mn^{2+} ลงในสิ่งสกัด เปรียบเทียบกับสิ่งสกัดที่ไม่ได้เติมโลหะไอออน พบว่า สิ่งสกัดทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มได้เท่ากันทั้งชุดควบคุม และชุดทดสอบ แสดงว่าสิ่งสกัดจาก *Oscillatoria* sp. ไม่ต้องการไดวาเลนต์แคทไอออนเพื่อช่วยในการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม

ความจำเพาะของสารสกัดโปรตีนต่อคาร์โบไฮเดรต

ความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงหนูเกาะกลุ่มของสารสกัดจาก *Oscillatoria* sp. สามารถถูกยับยั้งด้วย N-acetyl-D-galactosamine ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ และ N-acetyl-D-glucosamine ที่ความเข้มข้น 133 มิลลิโมลาร์ จากการที่สิ่งสกัดจากแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria* sp. สามารถทำให้เม็ด



ภาพที่ 2 ผลของอุณหภูมิต่อความสามารถของสิ่งสกัดจาก *Oscillatoria* sp. ในการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม

เลือดแดงหนูเกาะกลุ่ม และการเกาะกลุ่มนี้ถูกยับยั้งด้วยคาร์โบไฮเดรต ทำให้สรุปได้ว่าสิ่งสกัดจาก *Oscillatoria* sp. มีเลคตินอยู่ด้วย

สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เลคตินมีสมบัติในการทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงหรือเซลล์ชนิดอื่นที่พบตามธรรมชาติเกาะกลุ่ม จึงใช้เป็นหลักในการวิเคราะห์ปริมาณเลคตินได้ แต่เลคตินมีความจำเพาะกับคาร์โบไฮเดรตที่ผิวเซลล์ต่างชนิดกันไม่เหมือนกัน ดังนั้นเลคตินบางชนิดจึงมีความจำเพาะกับชนิดเซลล์ด้วย อย่างไรก็ตามการตรวจหาเลคตินโดยทดสอบการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงเป็นการวิเคราะห์ เลคตินแบบกึ่งปริมาณเท่านั้น เทคนิคนี้ไม่สามารถตรวจพบเลคตินที่ไม่ทำงาน หรือเลคตินที่มีบริเวณจับคาร์โบไฮเดรตบริเวณเดียวในโมเลกุล และเทคนิคนี้ไม่สามารถคาดคะเนปริมาณเลคตินที่อยู่ในสิ่งสกัดคาร์โบไฮเดรตจำเพาะออกมาด้วย นอกจากนี้การเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงอาจเกิดจากสารอื่นที่ไม่ใช่เลคติน เช่น พอลิฟีนอล แทนนิน ลิปิด หรือแคลเซียมฟอสเฟต เป็นต้น ดังนั้นการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงที่ทดสอบได้จะจำเพาะกับเลคตินเมื่อการเกาะกลุ่มนั้นสามารถยับยั้งได้ด้วยคาร์โบไฮเดรต (ดารารัตน์, 2536)

จากการสำรวจเลคตินในโปรตีนที่สกัดได้จากแพลงก์ตอนพืช จำนวน 11 ชนิด ที่แยกได้จากชายฝั่งทะเลในเขตจังหวัดชลบุรี โดยใช้เม็ดเลือดแดงคนหมู่เอ บี โอ และเม็ดเลือดแดงสัตว์ ได้แก่ เม็ดเลือดแดงไก่ ห่าน หนู เมาส์ หมู ม้า และแกะเกาะกลุ่ม พบว่า แพลงก์ตอนพืช 2 ชนิด คือ *Oscillatoria* sp. และ *Isochrysis galbana* สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงหนูเกาะกลุ่มได้ 210 และ 28 ไตเตอร์ แต่ไม่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงคนเกาะกลุ่ม (จันทร์จรัส, 2540) ในงานวิจัยนี้จึงได้เลือกศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของสารสกัดโปรตีนจากแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria* sp. เนื่องจาก *Oscillatoria* sp. เป็นแพลงก์ตอนในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มีคุณสมบัติคล้ายจุลินทรีย์ เจริญเติบโตได้รวดเร็ว ข้อมูลที่ได้จากการทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของสารสกัดโปรตีนจาก *Oscillatoria* sp. แสดงให้เห็นว่าการเก็บสิ่งสกัดไว้เพื่อศึกษา และการทดสอบควรทำที่อุณหภูมิต่ำ สารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้สกัดควรมีพีเอชที่เป็นกลาง หรือค่อนไปทางด่าง และไม่ต้องเติมโลหะไอออนในสารละลายบัฟเฟอร์ สำหรับการทดสอบความจำเพาะของสารสกัดโปรตีนต่อการทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม พบว่าถูกยับยั้งด้วย N-acetyl-D-galactosamine และ N-acetyl-D-glucosamine ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Watanabe และคณะ (1987) ที่ได้สกัดโปรตีนจาก *Microcystis aeruginosa* จากแหล่งน้ำธรรมชาติ และศึกษาความสามารถในการทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่ม พบว่าสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น กระต่าย หรือหนูเกาะกลุ่ม

นอกจากนี้ Sakamoto และคณะ (1996) ที่ได้ศึกษาเลคตินจาก *Microcystis* spp. ที่เก็บจากแหล่งน้ำธรรมชาติ และเพาะเลี้ยง จำนวน 3 ชนิด 14 สายพันธุ์ พบว่า *M. aeruginosa* และ *M. viridis* ชนิดละ 1 สายพันธุ์ สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มได้ และ *M. aeruginosa* M 288 ต้องการแคลเซียมไอออนช่วยในการเกาะกลุ่ม ในขณะที่ *M. viridis* NIES 102 ไม่ต้องการไดวาเลนท์แคทไอออนในการเกาะกลุ่ม และการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงของ M 288 สามารถถูกยับยั้งด้วย porcine stomach mucin type II (PSM), asialo-PSM และ asilo bovine submaxillary gland ส่วน NIES 102 ถูกยับยั้งด้วยไกลโคโปรตีน ซึ่งการยับยั้งการเกาะกลุ่มของสารสกัดจากแพลงก์ตอนพืชคล้ายกับสาหร่ายทะเล รายงานของ Rogers และ Fish (1991) สรุปไว้ว่าเลคตินจากสาหร่ายทะเลสีแดงส่วนใหญ่ถูกยับยั้งด้วยไกลโคโปรตีนมากกว่ามอโนแซคคาไรด์

เลคตินจากสาหร่ายทะเลสามารถนำมาใช้ในการจำแนกสาหร่ายทะเลในจีนัสเดียวกัน แต่ต่างชนิดกันได้ เลคตินจาก *Plilota plumosa* และ *Codium fragile* สามารถใช้บ่งบอกหมู่เลือดคนได้ อย่างไรก็ตามบทบาททางชีวภาพของเลคตินจากสาหร่ายทะเลยังไม่เป็นที่ทราบ

แน่ชัด (Roger และ Fish, 1991) ดังนั้นการทำเลคตินจาก *Oscillatoria* sp. ให้บริสุทธิ์ยิ่งขึ้น และศึกษาสมบัติอื่น เช่น จำนวนชนิดของเลคตินที่มีในสิ่งสกัด น้ำหนักโมเลกุล ความสามารถในการทำให้เซลล์ จุลินทรีย์เกาะกลุ่ม รวมทั้งการเลือกใช้คาร์โบไฮเดรตที่เป็นไกลโคโปรตีนทดสอบการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงให้มากชนิดขึ้น จะทำให้ได้ข้อมูลของเลคตินจากแพลงก์ตอนพืชมากยิ่งขึ้น อันจะเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ให้เกิดประโยชน์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

จันทร์จรัส วัฒนะโชติ ธิดารัตน์ น้อยรักษา และปิยะวรรณ ศรีวิลาศ. 2540. **การศึกษาเลคตินในสาหร่ายทะเลจากบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย.** รายงานการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 63 หน้า.

ดารารัตน์ ทองขาว. 2536. **เลคติน : โปรตีนจับจำเพาะคาร์โบไฮเดรต.** ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 215 หน้า.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utillizing the principle of protein dye binding. ***Anal. Biochem.*** 72 : 248 - 254.

Goldstein, I.J., R.C. Hughes, M. Monsigny, T. Osawa and N. Sharon. 1980. What should be called a lectin? ***Nature*** 285, 66.

Rogers, D.J. and B.C. Fish. 1991. **Marine algal lectins.** *In* Kilpatrick, D.C., Driessche, E.V. and Bog-Hansen, T.C. (eds.) Lectin Review Volume 1. Sigma Chemical Company, st. Louis. pp. 129 - 142.

Sakamoto, S., M. Yamaguchi, M.F. Watanabe, M. Watanabe and H. Kamiya. 1996. Distribution and characterization of lectins from natural and cultured *Microcystis* spp., ***In* Harmful and Toxic Algal Blooms**, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO : 569 - 572.

Shiomi, K., Y. Hideaki and K. Takeaki. 1980. Biochemical properties of hemagglutinins in the red alga *Serraticardia maximi* ***Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*** 46 : 1369 - 1373.

Vonshak, A. 1986. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae *In* Richmond, A. (ed.), **CRC Handbook of Microalgal Mass Culture** CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. pp. 117 - 145.

Watanabe, M.F., Y. Ozawa and S. Oishi. 1987. Hemagglutinating activity of *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacterium), ***Nippon Suisan Gakkaishi*** 53 : 1643 - 1646.