



**LECTIN FROM MULBERRY LEAVES**

**WAYAKORN NGAMJUNYAPORN**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE (BIOCHEMISTRY)**

With compliments  
of  
ศาสตราจารย์ ดร. อรุณ

**IN  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

Copyright 1995 Mahidol University

FH  
W357L  
1995

ชื่อวิทยานิพนธ์      เลคตินจากใบหม่อน  
ผู้วิจัย                วยากรณ์ งามจรรยากรณ์  
ปริญญา                วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

มนตรี จุฬาววัฒนทล Ph.D.

สุนันทา รัตนาโก Ph.D.

ชิษณุสรร สวัสดิวัฒน์ Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา    15 มิถุนายน พ.ศ. 2538

บทคัดย่อ

ได้ค้นพบเลคตินชนิดใหม่ที่จำเพาะต่อกรดเซียลิกในสามส่วนของต้นหม่อน(ใบ, ลำต้น และ ก้านใบ) ได้ทำการแยกเลคตินนี้ให้บริสุทธิ์จากส่วนใบของหม่อนโดยวิธีตกตะกอนโดยแอมโมเนียมซัลเฟต, แอฟิไนตี้โครมาโตกราฟีโดยใช้ N-acetylgalactosamine agarose คอลัมน์, Sephacryl S-200 คอลัมน์ และ Fast Protein Liquid Chromatography โดยใช้ Mono Q คอลัมน์ เลคตินนี้มีน้ำหนักโมเลกุลสัมพัทธ์เท่ากับ 39,000 และมีหน่วยย่อยมีน้ำหนักโมเลกุลสัมพัทธ์เท่ากับ 14,500. แอคติวิตีในการจับกับคาร์โบไฮเดรตของเลคตินศึกษาได้จากการยับยั้งแอคติวิตีด้วยน้ำตาลพบว่ามีความจำเพาะต่อ N-glycolylneuraminic acid มากกว่า N-acetylgalactosamine และ D-galactose ซึ่งสามารถยับยั้งแอคติวิตีของเลคตินได้ที่ความเข้มข้น 0.0325, 0.065 และ 0.065 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ เลคตินจากใบหม่อนพบว่าเป็นไกลโคโปรตีน

ที่ประกอบด้วยน้ำตาลที่เป็นกลาง 3.5% จากโพลีอะคริลาไมด์ เจล ไอโซอิเล็กโตรโฟกัสซึ่งพบว่า  
กรดอะมิโนมีค่า pI หลายค่าอยู่ในช่วงที่เป็นด่าง(7.35-8.45). องค์ประกอบของกรดอะมิโนของ  
กรดอะมิโนจากใบหม่อนพบว่าประกอบด้วย glutamic acid, glycine, lysine และ alanine เป็นส่วน  
ใหญ่ ได้ทำการศึกษายาพิษของกรดอะมิโนที่เป็นไปได้สองทางและพบว่าประการแรกกรดอะมิโนนี้อาจมี  
บทบาทเป็นโมเลกุลป้องกันสำหรับหม่อนเนื่องจากสามารถเหนี่ยวนำทำให้เกิดการจับกลุ่มตก  
ตะกอนของ *Pseudomonas syringae* pv *mori* ซึ่งเป็นเชื้อที่จำเพาะทำให้เกิดโรคในใบหม่อน  
ประการที่สองกรดอะมิโนอาจมีบทบาทในการส่งเสริมการกินของหนอนไหม ได้พบว่ากรดอะมิโนจากใบ  
หม่อนมีผลในการกระตุ้นแอคทีวิตีของเอนไซม์ในระบบการย่อยอาหารของหนอนไหม(*Bombyx*  
*mori* Linn) โดยมีผลอย่างมากต่อแอคทีวิตีของเอนไซม์ alkaline protease และมีผลเพียงเล็กน้อย  
ต่อแอคทีวิตีของเอนไซม์  $\alpha$ -amylase, trehalase และ alkaline phosphatase.

<b>Thesis Title</b>	Lectin from Mulberry Leaves
<b>Name</b>	Wayakorn Ngamjunyaporn
<b>Degree</b>	Master of Science (Biochemistry)
<b>Thesis Supervisory Committee</b>	Montri Chulavatnatol, Ph.D. Sunanta Ratanapo, Ph.D. Jisnuson Svasti, Ph.D.
<b>Date of Graduation</b>	15 June B.E. 2538 (1995)

#### **Abstract**

A new sialic acid-specific lectin was found in three parts of mulberry trees (leaves, stem and petiole). Purification of this lectin from mulberry leaves was performed by ammonium sulfate precipitation, affinity chromatography on a N-acetylgalactosamine agarose column, a Sephacryl S-200 column and fast protein liquid chromatography using a Mono Q column. Its native molecular weight was 39,000 and its subunit molecular weight was 14,500. By hapten inhibition, the mulberry leaf lectin (MLL) was shown to be specific to N-glycolylneuraminic acid more than N-acetylgalactosamine and D-galactose at 0.0325, 0.065 and 0.065 mM respectively. The lectin was found to be a heat-labile glycoprotein containing 3.5% neutral sugars. By polyacrylamide gel isoelectrofocusing, the lectin was found to exist in multiple forms with pI values in basic range (between 7.35-8.45). The lectin showed high contents of

glutamic acid, glycine, lysine and alanine. Two possible roles of the lectin were investigated. First, the lectin may be a defense molecule for the plant since it specifically induced agglutination of a specific mulberry pathogen, *Pseudomonas syringae* pv *mori*. Secondly, the lectin may play a role in enhancing food uptake by the silkworm since it was found to stimulate strongly alkaline protease but mildly  $\alpha$ -amylase, trehalase, alkaline phosphatase in the digestive system of the silkworms (*Bombyx mori* Linn).