LECTIN BINDING PROTEIN ON RUBBER PARTICLES
AND LATEX VESSEL PLUGGING

KAMOLCHANOK RUKNSEEREE

With compliments
of
Faculty of Graduate Studies
MAHIDOL UNIVERSITY

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1998

ISBN 974-589-721-3
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

ประสิทธิภาพของตัวเร่งการอุดตัน (RP-LBP) ที่จำพวกกับเลกซิน (luitoidin) ที่แก้จากหน่วยแบบบรรจุของถุงท่อของลำไส้ สารประกอบที่จำพวกขั้นของยางที่ได้จากการบินแยกขึ้นจากตัวเร่งการอุดตันของหัวจรดกว้างของกระเพาะ (59,000 xg, 45 นาที) โดยแยกออกมาเพราะวัตถุ Zone 2 ไปทำบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทำบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้วนำไปทับบริสุทธิ์โดยการอุ่นการควบคุมที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 5 นาทีแล้วแยกแยกแล้...
Lectin or lutoidin binding protein with specific recognition by lutoidin membrane lectin (lutoidin) was isolated from rubber particles, designated RP-LBP. The zone 2 rubber layer of centrifuged latex was isolated and thoroughly washed with isotonic buffer. RP-LBP was then extracted in the presence of 0.2% Triton X-100. Acetone precipitation was performed on the extract and the resultant pellet was solubilized and heated at 70°C for 5 min. RP-LBP was further purified from supernatant obtained after heat-treatment by passing through gel filtration and ion exchange column chromatography. Purified RP-LBP possessed native and subunits molecular weight of 120 kD and 24.5 kD upon native-PAGE and SDS-PAGE analyzes, respectively. The purified RP-LBP was found to be glycoprotein as determined by both differential staining (PAS and Alcian blue staining) and phenol sulfuric acid assay. The pI value was determined to be 5.2 while pH stability was in the range of 5-8. It was a thermostable protein and could stand heat treatment at 60°C without loss of activity. The RP-LBP was able to inhibit hemagglutination induced by lutoidin with highest binding affinity as its concentration required for inhibition was lowest in comparison with other glycoproteins used under the same study. Rubber particle aggregation was shown to be induced by lutoidin by interaction with the bound lutoidin binding protein, in addition to its hemagglutination activity. RP-LBP could specifically inhibit both the hemagglutination and rubber particle aggregation induced by lutoidin in a dose dependent manner. In addition, the lutoidin binding protein, either bound or free, was sensitive to chitinase hydrolysis of its carbohydrate moiety with the loss of its activity.

The rubber particle aggregation induced by lutoidin was clearly shown in this study. The various results indicated that RP-LBP playing the key role in rubber particle aggregation by binding interaction with lutoidin. The results implicated the possible function of lutoidin binding protein (RP-LBP) in the rubber particle coagulation leading to latex vessel plugging. The findings in this study point out several important criteria and implications for understanding the mechanism of rubber particle aggregation and coagulation process.