

บทคัดย่อ

เห็ดกินเป็นสารประเภทโปรตีนหรือไกลโคโปรตีนที่มีความจำเพาะคล้ายแอนติบอดีที่สามารถทำให้เกิดการจับกลุ่มของเซลล์ เป็นสารที่ได้จากแหล่งผลิตที่ไม่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน การศึกษาครั้งนี้เพื่อคัดเลือกให้ได้เห็ดกินจากเห็ดรับประทานได้ที่พบในประเทศไทยชนิดที่มีสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสมบัติเพื่อการใช้ประโยชน์สาร ศึกษาวิธีการทำบริสุทธิ์ คุณสมบัติ และ การปลูกผลึกสารเห็ดกินจากเห็ดรับประทานได้ที่คัดเลือก จากการตรวจหาสารเห็ดกินที่สะสมในตัวอย่างดอกเห็ดรับประทานได้ที่พบเจริญตามธรรมชาติและเพาะเลี้ยงได้โดยทั่วไปจำนวน 132 ตัวอย่าง ที่จัดอยู่ใน 17 สกุลคือ *Amanita, Boletus, Boletellus, Gyroporus, Heimiella, Phylloporus, Strobilomyces, Tylopilus, Xerocomus, Cantharellus, Lentinus, Volvariella, Scytinopogon, Lactarius, Russula, Schizophyllum* และ *Termitomyces* พบว่าสารสกัดหยาบของ เห็ดกินจากเห็ดหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) เห็ดระโงก (*Amanita* sp.) และ เห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) หลายสายพันธุ์ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อราทดสอบหลายสายพันธุ์และต้านเซลล์มะเร็งเยื่อช่องปากและเซลล์มะเร็งปากมดลูกของคนที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง สารสกัดหยาบเห็ดกินจากเห็ดข้างต้นมีความเสถียรที่อุณหภูมิโดยเฉลี่ยในช่วง 50-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และเสถียรต่อค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 6-10 ตลอดระยะเวลา 18 ชั่วโมงที่ทดสอบ ในการทำบริสุทธิ์สารเห็ดกินจากเห็ดฟาง *Volvariella volvacea* และเห็ดระโงก *Amanita* sp. สายพันธุ์ที่คัดเลือก สามารถตกตะกอนได้ด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 90 และแยกได้โดย Anion exchange chromatography ด้วย DEAE-Sepharose column จัดเป็น Monomeric lectin ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 25 และ 30 กิโลดาลตัน ตามลำดับ ในขณะที่สารเห็ดกินจากเห็ดแครง *Schizophyllum commune* สายพันธุ์ที่คัดเลือกเพื่อเปรียบเทียบ ตกตะกอนได้ด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 70 และแยกได้โดยวิธี Affinity chromatography ด้วย Mucin-Sepharose 4B column มีน้ำหนักโมเลกุล 29 และ 32 กิโลดาลตัน สารเห็ดกินบริสุทธิ์จากเห็ดทั้ง 3 สายพันธุ์ เป็นสาร ไกลโคโปรตีน สามารถปลูกผลึกสารเห็ดกินจากเห็ดฟางและเห็ดแครง (ตัวอย่างเปรียบเทียบ) ได้สำเร็จ ส่วนเห็ดระโงกยังต้องศึกษาต่อไป ผลึกเห็ดกินของเห็ดฟางสายพันธุ์ที่คัดเลือกมีลักษณะพลทที่ให้แบบแผนการกระจายรังสีเอกซ์ที่มีการแจกแจงรายละเอียด 3 อังสตรอม ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาสารเห็ดกินและโครงสร้างของสารในเชิงลึก ผลการศึกษาแสดงถึงเห็ดรับประทานได้ที่พบในประเทศไทย เป็นแหล่งสำคัญของสารเห็ดกินที่แตกต่างกันตามสายพันธุ์และแหล่งที่เห็ดชนิดนั้นเจริญ และยังสามารถแสดงสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพแตกต่างกัน ทำให้สามารถประยุกต์ใช้สารเห็ดกินได้ในด้านเภสัชกรรม การแพทย์ และการวิจัยทางวิทยาศาสตร์

Lectins are proteins or glycoproteins of non-immune origin, and able to agglutinate cells. This study aimed to select lectins accumulated in fruiting bodies of edible mushrooms found in Thailand. The lectins having useful bioactive activity, were then purified, characterized, and

crystallized. From the detection of lectins accumulated in fruiting bodies of edible mushroom naturally found and cultivated, 132 specimens of mushrooms classified into 17 genera (*Amanita*, *Boletus*, *Boletellus*, *Gyroporus*, *Heimiella*, *Phylloporus*, *Strobilomyces*, *Tylopilus*, *Xerocomus*, *Cantharellus*, *Lentinus*, *Volvariella*, *Scytinopogon*, *Lactarius*, *Russula*, *Schizophyllum*, and *Termitomyces*) were collected. Crude lectin extracts from several mushroom specimens, particularly different strains of *Volvariellavolvacea*, *Amanita* sp., and *Schizophyllum commune*, displayed inhibitory activity against bacterium and fungal test organisms, and cytotoxicity against two human cancer cell lines, human epidermoid carcinoma and human cervical carcinoma cells. The crude extracts from selected specimens of *Volvariellavolvacea*, *Amanita* sp., and *Schizophyllum commune* were stable at 50-60°C for 30 min, and at pH 6-10 for 18 h test. The efficient purification methods of the selected *Volvariellavolvacea* and *Amanita* lectins were by 90% ammonium sulphate precipitation and anion exchange chromatography using DEAE-Sepharose column. The purified lectins were monomeric lectins having molecular weight of 25 and 30 kDa, respectively. Whereas, the selected *Schizophyllum commune* lectin performed as comparison, could be precipitated by 70% ammonium sulphate, then purified by affinity chromatography using Mucin-Sepharose 4B column. The purified *Schizophyllum commune* lectin had molecular weight of 29 and 32 kDa. All selected lectins were proven to be a glycoprotein. The plate-like crystal of the selected straw mushroom, *Volvariellavolvacea*, lectin was successfully grown. The crystal displayed an X-ray diffraction pattern diffracting to 3.0 Å resolution, which is very useful for further structural study of the lectin. Results from this study reveal that several species of edible mushrooms are the potential sources of lectins, which can exhibit different biological properties, and could be useful for pharmaceutical, medical and scientific research applications.