

УДК 547.963.1:543.9

# ОЧИЩЕННЯ І ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО МАНОЗОСПЕЦИФІЧНОГО ЛЕКТИНУ ІЗ ЦИБУЛИН ГІАЦИНТИКА ГОСТРОЛОПАТЕВОГО (*Hyacinthella acutiloba* K. Perss.)

В. О. Антонюк<sup>1, 2</sup>Л. В. Панчак<sup>1, 2</sup>М. О. Старикович<sup>1</sup>Х. С. Струтовська<sup>2</sup>Р. С. Стойка<sup>1</sup><sup>1</sup>Інститут біології клітини НАН України, Львів<sup>2</sup>Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, УкраїнаE-mail: *Antonyuk @meduniv.lviv.ua*

Отримано 28.11.2012

Із цибулин гіацинтика гостролопатевого (*Hyacinthella acutiloba* K. Perss.) афінною хроматографією на дріжджовому манані та подальшою іонообмінною хроматографією на DEAE-Toyopearl очищено новий лектин з виходом 6,5 мг/кг свіжої сировини. Найкращим інгібітором цього лектину серед випробуваних моно- і дисахаридів була D-тураноза (GlcP α1-3 Fruf). Дуже сильним інгібітором активності лектину є дріжджовий манан. Слабкими інгібіторами були α-метил-D-манопіранозид, D-фруктоза і 2-ацетамідо-D-галактопіранозид. Лектин також слабо взаємодіяв із глікогеном печінки свині, крохмалем і манозовмісними глікопротеїнами (яєчний альбумін, овомукоїд та тиреоглобулін бика) і не взаємодіяв з пероксидазою хрону та лужною фосфатазою кишечника теляти.

За даними електрофорезу в 20%-му PAAG із SDS, лектин складається із субодиниць з молекулярною масою 12 кДа. Його молекулярна маса, визначена гель-хроматографією на колонці Toyopearl HW-55, становила 48 кДа. Лектин найкраще аглютинує еритроцити кролика, гірше — мурчака, дуже слабо — щура і не аглютинує еритроцити людини та кози. Він не втрачає гемаглютинуючої активності після діалізу проти 1%-го розчину динатрієвої солі ЕДТА і витримує нагрівання при +65 °C протягом 1 години.

**Ключові слова:** манозоспецифічні лектини, гіацинтик гостролопатевий (*Hyacinthella acutiloba*), очищення, властивості.

Лектини — це протеїни або глікопротеїни неімунної природи, які мають щонайменше один некatalітичний домен, який селективно і зворотно звязує моно- або олігосахариди, не спричинюючи при цьому їх хімічного перетворення. Лектини знайдено у рослин, грибів, тварин, мікроорганізмів і вірусів, де вони виконують різноманітні біологічні функції, що пов’язані з розпізнаванням вуглеводних детермінант на поверхні клітин. Результатом такого розпізнавання може бути розвиток інфекційного процесу, наприклад, проникнення часточок вірусу у клітини макроорганізму [1], симбіоз у мікоризних грибів [2] або стимуляція захисних реакцій організму під час захисту проти інфекції [3].

На сьогодні лектини є вагомими біотехнологічними інструментами і їх широко застосовують у біології, медицині та сільському господарстві.

Важливу групу становлять манозоспецифічні лектини однодольних рослин. Ці лектини, на відміну від манозоспецифічних лектинів дводольних рослин (зокрема, родини бобових), як правило, не зв’язують D-глюкозу та її похідні. Маючи високу селективність до манозильних ланцюгів у складі макромолекул, вони набули практичного застосування, оскільки такі структури відіграють важливу роль у багатьох біологічних процесах.

Базуючись на інсектицидній активності манозоспецифічних лектинів, вивели стійкі до шкідників трансгенні сільськогосподарські культури, які вже вирощують на великих площах. Трансгенні рослини рису із включенням геном лектину підсніжника мають значно вищу опірність до зеленої (*Nephrotettix virescens*) та коричневої (*Nilaparvata lugens*) цикадок — найбільш злісних шкідників рису [4], а картопля

із цим самим геном має підвищено стійкість до рослинної тлі *Myzus persicae* /Sulz./ [5]. Лектини також застосовують для розділення різних типів клітин та клітинних субпопуляцій, мітогенної стимуляції лімфоцитів, гістохімічного виявлення патологічних клітин, ідентифікації груп крові та штамів мікроорганізмів, розділення глікопротеїнів і дослідження їх біосинтезу [6–8]. Інтерес становлять роботи співробітників Aethlon Medical Inc.(San Diego, Calif., США) щодо очищення крові людини від вірусу гепатиту С шляхом плазмаферезу через спеціальну колонку, наповнену іммобілізованим лектином підсніжника. Після 3-разових сеансів на тиждень через 2 тижні такого лікування рівень вірусу в крові пацієнтів знижувався в середньому на 57% [9, 10].

Лектини нарцису і підсніжника не реагують з  $\alpha$ 1-6;  $\alpha$ 1-3;  $\alpha$ 1-4-глюканами (лінійними, розгалуженими, природними і синтетичними). Водночас вони преципітують розгалужені  $\alpha$ -манані дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris* із множинними бічними залишками D-манози, приєднаної до  $\alpha$ 1-6-манопіранозиду. Преципітація спостерігається також із лінійним  $\alpha$ -мананом дріжджів *Hansenula capsulata*. Галактоманані з бічними залишками  $\alpha$ -галактоманозилу або  $\alpha$ -манобіозилу, приєднані до  $\alpha$ 1-6-манопіранозиду основного ланцюга полісахариду з дріжджів *Candida lipolytica*, *Torulopsis lactiscondens*, *Torulopsis gropengiesserii*, також виявляють високу спорідненість до цієї групи лектинів [11]. Її можна розділити на три підгрупи на основі реактивності цих лектинів до складних гліканних ланцюгів фетуїну, асіалофетуїну та фітогемаглютиніну-Е з *Phaseolus vulgaris* [12]. Завдяки цьому їх можна використовувати як ліганди афінних сорбентів для розділення глікопротеїнів та їх аналізу. Кожен лектин, навіть у межах однієї родини, має притаманну лише йому вуглеводну специфічність, тому пошук нових лектинів та дослідження їхніх властивостей триває.

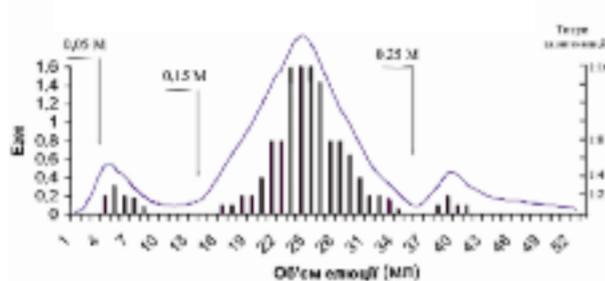
У результаті пошуку лектинів серед рослин інших родин класу однодольних нами було знайдено нові лектини, зокрема у цибулинах гіацинтика гостролопатевого (*Hyacinthella acutiloba* K. Perss.) родини гіацинтових (*Hyacinthaceae*), яка належить до класу однодольних порядку спаржецвітих.

Метою цієї роботи було розроблення методу одержання лектину гіацинтика гостролопатевого і дослідження його властивостей.

## Матеріали і методи

Рослинну сировину заготовляли у вересні на приватній земельній ділянці у м. Львові. Підземну частину рослини відмивали від землі, подрібнювали і гомогенізували у співвідношенні 1:3 з 0,9%-м розчином NaCl. Одержаній гомогенат центрифугували при 6 000 g 10 хв. Надосадову рідину освітлювали, доводячи pH до 4,5. Після повернення pH до значень 6,5–7,0 протеїни надосадової рідини осаджували сульфатом амонію за 90%-го насищення останнього. Утворений осад збиралі центрифугуванням, розчиняли у воді й після короткочасного діалізу проти води наносили на афінний сорбент. Ним слугував співполімер дріждового манану і крохмалю, спосіб одержання якого описано раніше [13]. Елюцію лектину з колонки афінного сорбента здійснювали за допомогою 2%-го розчину D-манози, розчиненої в 0,05 M калій-боратному буферному розчині, pH 8,2. Вихід протеїну з колонки контролювали за абсорбцією елюату при 280 нм. Фракції, що містили протеїн, об'єднували, висоловали сульфатом амонію за 90%-го насищення і діалізували проти 0,02 M фосфатного буферного розчину. Після діалізу розчин наносили на колонку DEAE-Toyopearl, попередньо врівноважену тим самим буферним розчином. Збиралі фракції, які спричинювали аглютинацію еритроцитів кролика і виходили з колонки іонообмінника в діапазоні концентрацій буферного розчину 0,05–0,15 M, pH 7,0 (рис. 1).

Інші використані в роботі лектини (із м'якоті плодів банану, цибулин підсніжника та нарцису, зубків часнику, кореневищ купини багатоквіткової) одержували за вищеописаною методикою з незначними модифікаціями.



*Rис. 1. Очищення лектину *Hyacinthella acutiloba* іонообмінною хроматографією:* стрілками позначене місце нанесення зразка і молярність фосфатного буфера; стовпчиками показано місце виходу лектину за гемаглютинюючою активністю щодо еритроцитів кролика (шкала праворуч)

Молекулярну масу субодиниць лектину визначали за допомогою електрофорезу в 20%-му поліакриламідному гелі за присутності 0,1% додецилсульфату натрію (SDS). Як стандарт використовували суміш протеїнів з відомою молекулярною масою фірми Fermentas (Литва).

Молекулярну масу лектину визначали гель-хроматографією на колонці Toyopearl HW-55, застосовуючи як маркери яєчний лізоцим ( $M_r = 14,3$ ), соєвий інгібітор трипсину ( $M_r = 21$  кДа), пероксидазу хрону ( $M_r = 43$  кДа), лектин насіння гороху ( $M_r = 48$  кДа), лектин підсіжника ( $M_r = 50$  кДа), альбумін сироватки крові бика ( $M_r = 69$  кДа) та лектин виноградного слімака ( $M_r = 79$  кДа).

Вміст вуглеводів у препараті лектину знаходили за методом Dubois et al. [14].

Вуглеводну специфічність одержаного лектину визначали в реакції пригнічення гемаглютинації еритроцитів кролика вуглеводами і глікопротеїнами. За допомогою ступінчастого розведення вуглеводу чи глікопротеїну встановлювали його мінімальну концентрацію, за якої повністю пригнічувалась активність лектину з титром 1:4 [15].

Для характеристики вуглеводної специфічності лектину використовували: D-глюкозу, D-фруктозу, D-галактозу, сахарозу, мальтозу, лактозу (Союзхимреактив), рафінозу (Fluka, Швейцарія),  $\alpha$ - і  $\beta$ -метил-D-галактозиди, L-рамнозу, 2-ацетамідо-D-галактопіранозид та 2-ацетамідо-D-глюкопіранозид (Chemapol, Чехія), D-манозу, D-туранозу, L-рибозу (виробництва Братиславського хімічного інституту), мелібозу,  $\alpha$ -метил-D-манозид, L-фукозу (Koch Light, Великобританія). Вивчаючи взаємодію з глікопротеїнами та полісахаридами, застосовували водорозчинний крохмаль, глікоген печінки свині, овомукоїд та тричі перекристалізований овальбумін (Biolar, Олайне, Латвія), гуміарарак і гепарин (Loba Feinchemie, Австрія), лужну фосфатазу з кишечника теляти (Serva, Німеччина), очищали інулін [16], дріжджовий манан [17] / і тиреоглобулін бика [18].

## Результати та обговорення

З 1 кг свіжозібраних цибулин гіацинтика гостролопатевого (*Hyacinthella acutiloba*) було одержано 6,5 мг ліофільно висушеного лектину — білого аморфного порошку, добре розчинного у водно-сольових розчинах при pH 3–9. Лектин витримує прогрівання при +65 °C протягом 1 год, але за 15 хв при +75 °C його активність втрачалась на 75%. За діалізу проти 1%-го розчину динат-

рієвої солі етилендіамінtetраоцтової кислоти упродовж 8 год лектин не втрачав гемаглютинуючої активності. Це свідчить про те, що іони  $Ca^{2+}$  і  $Mg^{2+}$  не є необхідними для вияву його активності. Найімовірніше, лектин є чистим протеїном, а не глікопротеїном, оскільки в складі одержаного препарата вуглеводів було виявлено менше 0,5%.

Під час електрофорезу в 20%-му PAAG у присутності 0,1% SDS виявлено одну зону, яка відповідає молекулярній масі 12 кДа (рис. 2).

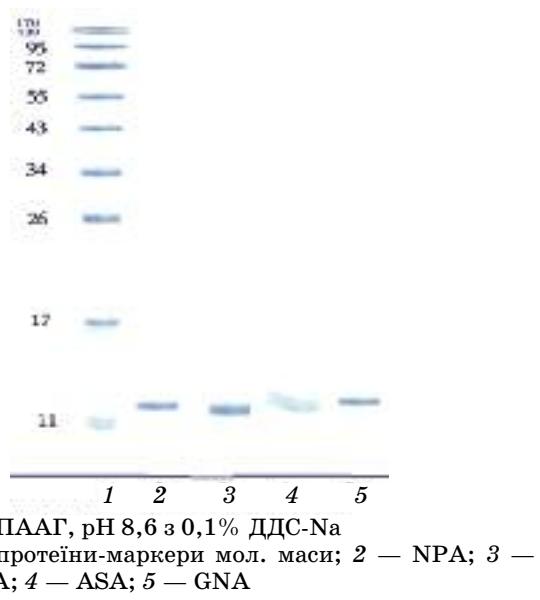


Рис. 2. Електрофорез лектину *Hyacinthella acutiloba* та інших манозоспецифічних лектинів однодольних рослин у 20%-му PAAG за присутності 0,1% SDS

За pH 7,2 лектин є гомотетramerом — його молекулярна маса, визначена гель-хроматографією, становила 48 кДа.

Лектин найкраще аглютинує еритроцити кролика, значно слабше — еритроцити мурчака. Еритроцити щура аглютинує в дуже високій концентрації, а еритроцити людини та кози не аглютинує. За профілем взаємодії з еритроцитами кролика, мурчака і щура досліджуваний лектин відрізняється від інших манозоспецифічних лектинів однодольних (табл. 1). За вуглеводною специфічністю він є близьким (але не ідентичним) до лектину часнику, ніж до інших лектинів, наведених у табл. 2.

Можна припустити, що достатньо сильна взаємодія лектину з D-туранозою (GlcP  $\alpha$ 1-3 Fruf) пояснюється селективністю лектину до  $\alpha$ 1-3-зв'язків і відносною нерозбірливістю до гліко- чи манопіранозильного циклу або ж вирішальне значення для взаємодії

Таблиця 1. Взаємодія манозоспецифічних лектинів з еритроцитами людини і тварин

Лектин	Мінімальна концентрація лектину (мкг/мл), що спричинює аглютинацію еритроцитів				
	Кролик	Мурчак	Щур	Людина (групи О, А, В)	Коза
НАВА	19	625	2500	—	—
МВА	9,75	2,44	2500	—	—
НРА	9,75	19	312	—	—
ГНА	9,75	312	—	—	—
ЛВА	4,88	9,75	625	—	—
РМРА	4,88	78	9,75	—	—
АСА	19	312	1250	—	—

*Примітка.* Прочерк означає відсутність аглютинації у концентрації 10 000 мкг/мл; НАВА — *Hiacintella acutiloba* bulb agglutinin, лектин гіацинтика гостролопатевого; МВА — *Musa banana* agglutinin, лектин м'якоті плодів банана; НРА — *Narcissus pseudonarcissus* agglutinin, лектин цибулин нарциса; ГНА — *Galanthus nivalis* agglutinin, лектин цибулин піденіжника; ЛВА — *Leucojum vernum* agglutinin, лектин цибулин білоцвіту весняного; РМРА — *Polygonatum multiflorum* rhizomae agglutinin, лектин кореневищ купини багатоквіткової; АСА — *Allium sativum* agglutinin, лектин зубків часнику.

Таблиця 2. Взаємодія лектинів з вуглеводами та глікопротеїнами

Інгібітор	Найменша концентрація (мМ або %), що пригнічує активність 4 гемаглютинуючих одиниць лектину				
	НАВА	АСА	МВА	РМРА	НРА
α-Метил-D-манопіранозид	50	50	50	—	—
D-фруктоза	100	—	100	—	—
Тураноза	6,25	50	25	25	100
2-Ацетамідо-D-галактопіранозид	50	—	100	12,5	12,5
Яечний альбумін	0,25%	—	0,125%	0,5%	—
Овомукоїд	0,25%	1%	0,125%	—	0,5%
Пероксидаза коренів хрону	—	0,5%	0,062%	—	—
Крохмаль	0,5%	—	0,5%	1%	—
Глікоген печінки свині	0,125%	—	—	—	—
Дріжджовий манан	0,0005%	0,008%	0,004%	0,002%	0,002%
Тиреоглобулін бика	0,125%	0,125%	0,5%	0,016%	0,25%
Лужна фосфатаза кишечника теляти	—	—	0,5%	1%	0,25%

*Примітка.* У таблицю не внесено D-глюкозу, D-галактозу, D-ксилозу, L-рамнозу, L-арабінозу, L-фукозу, лактозу, рафінозу, мелібіозу, 2-ацетамідо-D-глюкопіранозид, D-глюкуронову кислоту, гуміарарабік, гепарин, ламінарин, інулін, імуноглобулін G людини, з якими лектини не взаємодіяли у концентрації 100 мМ (моно- і дисахариди) або 1% (полісахариди і глікопротеїни).

глікокон'югату з лектином має довжина або кількість олігосахаридних «антен». Так, лектин слабо взаємодіє з глукозовмісним крохмalem і сильніше — з глікогеном печінки свині, розгалуженість у якого вища. Не взаємодіє він із пероксидазою хрону, у якої маноза є термінальним вуглеводом олігосахаридної частини молекули, взаємодіє з тиреоглобуліном бика, яечним альбуміном та ово-

мукоїдом, де маноза лежить у корі олігосахаридних «антен». Ди- і тетраантенні олігосахаридні ланцюги лужної фосфатази довші за триантенні ланцюги тиреоглобуліну бика та яечного альбуміну. Це може мати вирішальне значення для взаємодії з лектином (структурі олігосахаридних ланцюгів наведено в роботі [19]).

Для встановлення вуглеводної специфічності лектину потрібен великий набір олігосахаридів та глікопротеїнів з певною структурою, що є доступним для небагатьох лабораторій світу, тому в цій роботі зроблено лише перший крок у цьому напрямі.

Таким чином, уперше очищений нами лектин із цибулин гіацинтика гостролопатевого відрізняється від раніше відомих манозаспецифічних лектинів за своїм профілем взаємодії з олігосахаридними структурами.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Eisen S., Dzwonek A., Klein N. J. Mannose-binding lectin in HIV infection // Future Virol. — 2008. — V. 3, N 3. — P. 225–233.
2. Giollant M., Guillot J., Damez M. et al. Characterization of a lectin from *Lactarius deterrimus*. Research on the possible involvement of the fungal lectin in recognition between mushroom and spruce during the early stages of mycorrhize formation // Plant. Physiol. — 1993. — V. 101. — P. 513–522.
3. Willment J. A., Brown G. D. C-type lectin receptors in antifungal immunity // Trends Microbiol. — 2008. — V. 16, N 1. — P. 27–32.
4. Foissac X., Thi Loc N., Christou P. et al. Resistance to green leafhopper (*Nephrotettix virescens*) and brown planthopper (*Nila parvata lugens*) in transgenic rice expressing snowdrop lectin (*Galanthus nivalis* agglutinin; GNA) // J. Insect. Physiol. — 2000. — V. 46, N 4. — 573–583.
5. Down R. E., Ford L., Woodhouse S. D. et al. Tritrophic interactions between transgenic potato expressing snowdrop lectin (GNA), an aphid pest (peach-potato aphid; *Myzus persicae* (Sulz.) and a beneficial predator (2-spot ladybird; *Adalia bipunctata* L.) // Transg. Res. — 2003. — V. 12, N 2. — P. 229–241.
6. Sharon N., Lis H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules // Glycobiology. — 2004. — V. 14. — P. 53R–62R.
7. Антонюк В. О. Лектини та їх сировинні джерела. — Львів: Кварт, 2005 — 554 с.
8. Nascimento K. S., Cunha A. I., Nascimento K. S. et al. An overview of lectins purification strategies // J. Mol. Recognit. — 2012. — V. 25. — P. 527–541.
9. Tullis R. H., Duffin R. P., Handley H. H. et al. Reduction of hepatitis C virus using lectin affinity plasmapheresis in dialysis patients // Blood Purif. — 2009. — V. 27, N 1. — P. 64–69.
10. Tullis R. H., Duffin R. P., Ichim T. E. et al. Modeling Hepatitis C Virus Therapies Combining Drugs and Lectin Affinity Plasmapheresis // Ibid. — 2010. — V. 29. — P. 210–215.
11. Kaku H., van Damme E. I. M., Peumans W. I., Goldstein I. J. Carbohydrate-binding specificity of the daffodil (*Narcissus pseudonarcissus*) and amaryllis (*Hippeastrum hybr.*) bulb lectins // Arch. Biochem. Biophys. — 1990. — V. 279, N 2. — P. 298–304.
12. Barre A., van Damme E. J. M., Peumans W. J., Rouge P. Structure-Function Relationship of Monocot Mannose-Binding Lectins // Plant Physiol. — 1996. — V. 112. — P. 1531–1540.
13. Антонюк В. О. Способ очищення манозаспецифічних лектинів / Деклараційний патент на корисну модель № 13770. Опубл. 17.04.2006, Заявка u200510008.
14. Dubois M., Gilles K., Hamilton I. et al. Colorimetric method for demonstration of sugars and related substances // Anal. Chem. — 1956. — V. 28, N 3. — P. 350–356.
15. Луцик М. Д., Панасюк Е. Н., Антонюк В. А. и др. Методы исследования углеводной специфичности лектинов (методические рекомендации). — Львов, 1983. — 20 с.
16. Лазурьевский Г. В., Терентьева И. В., Шамшурин А. А. Практические работы по химии природных соединений. — М.: Высшая школа, 1966. — 336 с.
17. Методы химии углеводов /Под ред. Кочеткова Н. К. — М.: Мир, 1967. — 512 с.
18. Shifrin S., Consiglio E., Kohn L. D. Effect of the Complex Carbohydrate Moiety on the Structure of Thyroglobulin // J. Biol. Chem. — 1983. — V. 258, N 6. — P. 3780–3786.
19. Панчак Л. В., Антонюк В. А. Очистка лектина из плодовых тел *Lactarius pergamenus* (Fr.) Fr и изучение его свойств // Биохимия. — 2011. — Т. 76, № 4. — С. 537–550.

Це становить значний інтерес для біотехнологічних досліджень, зокрема при створенні афінних сорбентів, які можуть набути застосування у розділенні глікокон'югатів, ефективне афінне очищення яких у багатьох випадках потребує застосування декількох афінних сорбентів з різними лігандами.

Автори висловлюють подяку с. н. с., к. б. н. Р. О. Білому за критичні зауваження під час підготовки рукопису.

**ОЧИСТКА И ХАРАКТЕРИСТИКА  
НОВОГО МАННОЗОСПЕЦИФИЧНОГО  
ЛЕКТИНА ИЗ ЛУКОВИЦ  
ГИАЦИНТИКА ОСТРОЛОПАСТНОГО  
(*Hyacinthella acutiloba* K. Perss.)**

B. O. Антонюк<sup>1, 2</sup>

L. V. Панчак<sup>1, 2</sup>

M. O. Старицович<sup>1</sup>

X. C. Струтовская<sup>2</sup>

P. C. Стойка<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии клетки НАН Украины,  
Львов

<sup>2</sup>Львовский национальный медицинский университет имени Даниила Галицкого, Украина

E-mail: [Antonyuk@meduniv.lviv.ua](mailto:Antonyuk@meduniv.lviv.ua)

Из луковиц гиацинтика остролопастного (*Hyacinthella acutiloba* K. Perss.) аффинной хроматографией на дрожжевом маннане и последующей ионообменной хроматографией на DEAE-Toyopearl очищен новый лектин с выходом 6,5 мг/кг свежего сырья. Наилучшим ингибитором лектина среди испытанных моно- и дисахаридов была D-туроноза (GlcP α1-3 Fruf). Очень сильным ингибитором активности лектина является дрожжевой маннан. Слабыми ингибиторами активности были α-метил-D-маннозид, D-фруктоза и 2-ацетамило-D-галактопиранозид. Лектин также слабо взаимодействовал с гликогеном печени свиньи, крахмалом и маннозосодержащими гликопротеинами (яичным альбумином, овомукоидом, тиреоглобулином быка) и не взаимодействовал с пероксидазой хрена и щелочной фосфатазой кишечника теленка.

По данным электрофореза в 20%-м PAAG с SDS, лектин состоит из субъединиц молекулярной массой 12 кДа. Его молекулярная масса, определенная гель-хроматографией на колонке Toyopearl HW-55, составляла 48 кДа. Лучше всего лектин агглютинирует эритроциты кролика, хуже — морской свинки, очень слабо — крысы и не агглютинирует эритроциты человека и козы. Лектин не теряет гемагглютинирующей активности после диализа против 1%-го раствора динатриевой соли ЭДТА и выдерживает нагревание до +65 °C на протяжении 1 часа.

**Ключевые слова:** маннозоспецифичные лектины, гиацинтик остролопастной (*Hyacinthella acutiloba*), очистка, свойства.

**PURIFICATION AND CHARACTERIZATION  
OF A NEW MANNOSE-SPECIFIC LECTIN  
FROM *Hyacinthella acutiloba* K. Perss.**

V. O. Antonyuk<sup>1, 2</sup>

L. V. Panchak<sup>1, 2</sup>

M. O. Starykovych<sup>1</sup>

K. S. Strutovskaya<sup>2</sup>

R. S. Stoika<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Cell Biology  
of National Academy of Sciences of Ukraine,  
Lviv

<sup>2</sup>Danylo Halytsky Lviv National Medical  
University, Ukraine

E-mail address: [antonyuk@meduniv.lviv.ua](mailto:antonyuk@meduniv.lviv.ua)

A new lectin with 6.5 mg/kg yield was purified from fresh bulb *Hyacinthella acutiloba* K. Perss. by combination of affinity chromatography on yeast mannan and by ion exchange chromatography on DEAE-toyopearl. The best lectin inhibitor among tested mono- and disaccharides was D-turanose (GlcP α1-3 Fruf). Very powerful inhibitor of lectin activity was yeast mannan. The lectin revealed weak affinity to α-methyl-D-mannoside, D-fructose and 2-acetamido-D-galactopyranoside. The lectin interacted also with pig liver glycogen, starch and mannose-containing glycoproteins (ovoalbumin, ovomucoid and calf thyroglobulin), but don't interacted with horse-radish peroxidase and calf intestine alkaline phosphatase.

According to electrophoresis, in 20% SDS-PAAg containing SDS-Na the lectin consists with subunits of molecular weight 12 kDa. Molecular weight of the lectin is 48 kDa according to gel-chromatography on Toyopearl HW-55. The lectin agglutinated best of all rabbit erythrocytes and worse agglutinated guinea-pig, very weak — rat erythrocytes and did not agglutinate human and goat erythrocytes. After dialysis against 1% EDTA sodium salt solution the lectin did not lose hemagglutinating activity and endured heating to +65 °C during one hour.

**Key words:** mannose-specific lectins, *Hyacinthella acutiloba*, purification, properties.