

Lectin Activity

Subjects: [Engineering](#), [Chemical](#) | [Biology](#)

Contributor: Josiane F. da Silva , Clara M. G. Lima , Débora L. da Silva , Ivonea S. do Nascimento , Sarah de O. Rodrigues , Letícia A. Gonçalves , Renata F. Santana , Waseem Khalid , Silvani Verruck , Talha Bin Emran , Irwin R. A. de Menezes , Henrique D. M. Coutinho , Mayeen U. Khandaker , Mohammad R. I. Faruque , Rafael da C. I. Fontan

A purificação de biomoléculas com alto grau de especificidade, como as lectinas, tem despertado interesse no uso de leitos fixos não tradicionais funcionalizados com ligantes de particular interesse. A interação é robusta o suficiente para permitir a adsorção de glicoproteínas e reversível o suficiente para permitir a dissociação de moléculas em resposta a mudanças no pH da solução. Estudos sobre adsorventes não convencionais, como suportes cromatográficos, podem fundamentar, enriquecer e auxiliar projetos em diversas áreas do conhecimento. Criogênicos de poliacrilamida são emergentes e eficientes, podendo ser sintetizados e ter suas matrizes modificadas para múltiplos fins e técnicas cromatográficas. Também são funcionais e apresentam baixo custo quando comparados aos adsorventes cromatográficos convencionais. Nesse contexto, as lectinas podem ser utilizadas principalmente na prevenção de doenças autoimunes e em estudos com biossensores.

purification of bio compounds

macromolecules

affinity chromatography

1. Introdução

O desenvolvimento de técnicas e métodos para separar e purificar macromoléculas biológicas, como proteínas, tem sido um pré-requisito importante para muitos dos avanços obtidos em diversas áreas do conhecimento. No campo da cromatografia, o desenvolvimento de novos suportes de resinas porosas, novas agaroses reticuladas e novas sílicas porosas permitiu o rápido crescimento em técnicas de alta resolução, como cromatografia líquida de alta eficiência, escalas analíticas e preparativas de laboratório, bem como para cromatografia industrial em colunas com volumes de leito de várias centenas de litros [1]. Monólitos macroporosos, chamados criogéis, são produzidos a partir de uma solução de monômeros e polímeros hidrofílicos usando técnicas de criocongelamento previamente utilizadas para aplicações biomédicas. A criogeificação é um tipo específico de síntese de géis poliméricos em que a formação se inicia no tratamento criogênico de sistemas capazes de formar géis [2]. O uso de criogéis que incorporam radicais epóxi livres em suas superfícies é uma das formas mais frequentes de imobilizar ligantes de interesse. Isto é devido à facilidade com que as moléculas do grupo amina, tiol ou hidroxila podem reagir para formar uma ligação covalente estável. Esta é uma das opções mais populares entre as possibilidades disponíveis. A estratégia do glutaraldeído (GLU) tem sido destacada como um dos outros mecanismos que podem ser empregados com esses radicais epóxi reativos. A vantagem essencial que oferece é a capacidade de criar um longo braço espaçador entre o ligante e a superfície adsorvente. Por causa disso, pode evitar o efeito de impedimento estérico, que pode aumentar o poder desestabilizador do ligante, bem como

purificar a molécula alvo. É possível purificar lectinas usando adsorventes macroporosos. As lectinas são glicoproteínas de origem não imune que carecem de atividade catalítica e possuem atividade e especificidade mediadas por mono e oligossacarídeos; Este método tem uma boa chance de sucesso. Quando diferentes tipos de carboidratos são imobilizados, adsorventes com outras propriedades são produzidos. Conseqüentemente, existe agora uma possibilidade distinta de que estes adsorventes possam ser usados em processos destinados a separar lectinas [3][4].

O processo de formação de géis em uma zona de semicongelamento permite a preparação de matrizes monolíticas mecanicamente estáveis compostas por grandes macroporos interconectados, uma vez que os poros formados neste processo são 100 a 1000 vezes maiores que os de outros géis, que possuem poros na faixa de 0,03 a 0,4 µm. Essa característica revela a atratividade e o potencial desses materiais, pois o fluxo através desses poros é puramente convectivo e a resistência à transferência de massa é baixa, o que os torna permeáveis a soluções aquosas de proteínas e até mesmo à suspensão celular [3][4][5].

A purificação de proteínas é fundamentada em estudos das características físico-químicas, propriedades estruturais e biológicas, sendo estimulada pelo seu potencial uso em diversas áreas da medicina, química, bioquímica e biologia [6]. A técnica mais utilizada para mediar essa purificação é a cromatografia de afinidade [7][8], com base em interações altamente específicas e reversíveis entre pares de materiais biológicos (enzima-substrato, enzima-inibidor, antígeno-anticorpo), bem como estudos utilizando interações com N-acetilglucosamina [9], derivados da galactose [7] manose [10] e proteínas [11], entre outros, que podem garantir maior seletividade devido às características estereoquímicas e tipológicas específicas apresentadas pelas proteínas. O princípio do método em questão é melhorar a capacidade de separação de biomoléculas de ligações específicas não covalentes a suportes insolúveis, favorecendo a obtenção de biosseparações com alta seletividade [12][13][14]. Sabe-se que o uso de matrizes macroporosas monolíticas aplicadas na purificação de biocompostos está em constante crescimento e desenvolvimento [15].

2. Atividade da lectina

Conceitualmente, lectinas são proteínas de origem não imune que reconhecem e estão associadas a carboidratos ou glicoconjugados de forma reversível, com alta afinidade e especificidade. Devido a essa habilidade, essas biomoléculas têm efeitos biológicos importantes, como inseticida, bactericida, antitumoral e fungicida, além de uma inibição sobre a protease do HIV-I, e tornaram-se instrumentos essenciais no diagnóstico de doenças, identificação de cepas de microrganismos e em estudos relacionados a tipos sanguíneos. Lectinas vegetais têm sido utilizadas em biologia celular e imunologia como agentes diagnósticos e imunomoduladores, bem como para fins terapêuticos [16]. Além disso, podem ser utilizados na produção de biossensores para a indústria alimentícia, verificando a presença de microrganismos para garantir a qualidade de matérias-primas e produtos industrializados [17][18].

Vale ressaltar que o estudo de Matoba et al. [19] aumentou a atividade antiviral das lectinas. Tais proteínas têm como características o reconhecimento e a manutenção de ligações específicas e reversíveis a mono ou

oligosacarídeos e outras substâncias contendo açúcares, mantendo a estrutura covalente desses ligantes glicosídicos [19]. Eles podem precipitar células, glicoconjugados e polissacarídeos de fontes animais, vegetais, virais e bacterianas [20][21].

A ligação de lectinas com açúcares é atribuída a um domínio de reconhecimento de carboidratos (DRC) dentro de sua estrutura polipeptídica. A interação de lectinas com determinados carboidratos pode ser tão específica quanto a interação entre antígeno e anticorpo ou substrato e enzima. Algumas são metaloproteínas, ou seja, requerem a presença de cátions metálicos em seus sítios específicos de ligação com carboidratos em conexão com eles, assemelhando-se a metaloproteases; mas lectinas não apresentam atividade catalítica [20][22]. Geralmente, as lectinas possuem pelo menos dois sítios de ligação para carboidratos, que permitem ligações cruzadas entre células através de combinações com açúcares na superfície ou entre açúcares contidos em macromoléculas, justificando sua capacidade de aglutinar partículas e precipitar glicoconjugados. A interação lectina-carboidrato é devida a ligações covalentes, nas quais moléculas de água, associadas ao grupo polar de proteínas e também ao redor do carboidrato, são deslocadas (**Figura 1**). Essa modificação resulta na formação de novas redes de ligação de hidrogênio, que, juntamente com as forças de van der Waals, estabilizam essa interação [7][23].

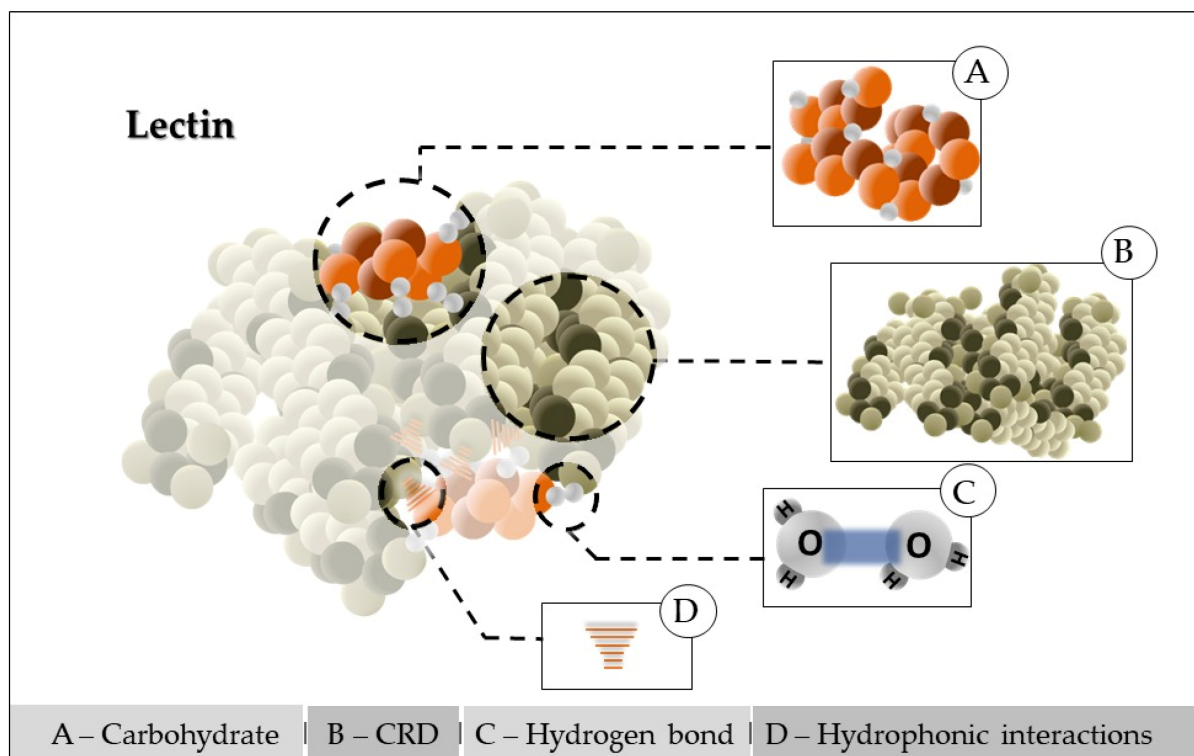


Gráfico 1. Esquema que ilustra a ligação da lectina ao carboidrato através do domínio de reconhecimento de carboidratos. A interação carboidrato-lectina envolve, entre outras forças não covalentes, a formação de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas.

A estrutura das proteínas e sua atividade são fortemente influenciadas por fatores ambientais, como pH e temperatura, além de fatores químicos, como a presença de íons [24]. A temperatura é um fator considerável na manutenção da atividade nativa da hemaglutinação de lectinas. Singh (2013) trabalhando com lectina de

Momordica charantia (MCJ) observou que a 30 °C sua atividade foi mantida, porém o aumento da temperatura para 55 °C reduziu sua atividade hemaglutinante em 50%, sendo que esse percentual de atividade foi mantido por 12 min [25]. A perda total da atividade da lectina ocorreu a 65 °C, sem recuperação, mesmo após redução da temperatura, e isso mostrou que a cinética de inativação da atividade de hemaglutinação da lectina nessa temperatura é um processo irreversível.

Semelhante à temperatura, o pH é um fator de influência significativo na atividade da lectina. Testes de hemaglutinação com lectina MCJ mostraram que ela é ativa em valores de pH entre 3 e 11. A atividade hemaglutinante da ACM aumenta com o aumento do pH, e a atividade se maximiza na faixa de pH de 5 a 8. Com o aumento do pH, a atividade hemaglutinante da ACM diminuiu, mantendo menos de 50% da atividade de aglutinação do pH entre 10 e 11 [25].

A maioria das lectinas necessita de íons metálicos para apresentar atividade aglutinante, como é o caso das lectinas de leguminosas que necessitam de Mn^{2+} e Ca^{2+} . Estudos realizados por Sharon e Lis [26] com concanavalina A () indicou que, em meio gelado ácido, houve remoção de íons metálicos da molécula de, eliminando sua capacidade de se ligar a carboidratos. No entanto, tal reação pode ser contornada com a adição de Mn^{2+} e Ca^{2+} íons nesta ordem, considerando que os metais conferem um alto grau de estabilidade estrutural ao, protegendo lectinas contra a inativação térmica [26][27].

Por outro lado, esses mesmos íons em altas concentrações são capazes de aglutinar células, como observado por Silva et al. [15] em seu estudo sobre a influência do Ca^{2+} e Mn^{2+} íons por sua atividade hemaglutinante de lectina foliar de mandioca. Assim, para garantir que a aglutinação esteja sendo mediada por lectina e não por íons em excesso, é necessário inibir essa atividade com a adição de carboidratos [15].

References

1. Janson, J.C. Principles, High Resolution Methods, and Applications. In Protein Purification; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2011; pp. 3–50. ISBN 978-0-471-74661-4.
2. Dainiak, M.B.; Allan, I.U.; Savina, I.N.; Cornelio, L.; James, E.S.; James, S.L.; Mikhalovsky, S.v.; Jungvid, H.; Galaev, I.Y. Gelatin-Fibrinogen Cryogel Dermal Matrices for Wound Repair: Preparation, Optimisation and in Vitro Study. *Biomaterials* 2010, 31, 67–76.
3. Perçin, I.; Khalaf, R.; Brand, B.; Morbidelli, M.; Gezici, O. Strong Cation-Exchange Chromatography of Proteins on a Sulfoalkylated Monolithic Cryogel. *J. Chromatogr. A* 2015, 1386, 13–21.
4. Tao, S.P.; Wang, C.; Sun, Y. Coating of Nanoparticles on Cryogel Surface and Subsequent Double-Modification for Enhanced Ion-Exchange Capacity of Protein. *J. Chromatogr. A* 2014, 1359, 76–83.

5. Ünlüer, Ö.B.; Ersöz, A.; Denizli, A.; Demirel, R.; Say, R. Separation and Purification of Hyaluronic Acid by Embedded Glucuronic Acid Imprinted Polymers into Cryogel. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2013, 934, 46–52.
6. Banerjee, S.; Chaki, S.; Bhowal, J.; Chatterjee, B.P. Mucin Binding Mitogenic Lectin from Freshwater Indian Gastropod *Belamya Bengalensis*: Purification and Molecular Characterization. *Arch. Biochem. Biophys.* 2004, 421, 125–134.
7. Oliveira, J.T.A.; Melo, V.M.M.; Câmara, M.F.L.; Vasconcelos, I.M.; Beltramini, L.M.; Machado, O.L.T.; Gomes, V.M.; Pereira, S.P.; Fernandes, C.F.; Nunes, E.P.; et al. Purification and Physicochemical Characterization of a Cotyledonary Lectin from *Luetzelburgia Auriculata*. *Phytochemistry* 2002, 61, 301–310.
8. Roy, I.; Sardar, M.; Gupta, M.N. Cross-Linked Alginate-Guar Gum Beads as Fluidized Bed Affinity Media for Purification of Jacalin. *Biochem. Eng. J.* 2005, 23, 193–198.
9. Gonçalves, G.R.F.; Gandolfi, O.R.R.; Santos, C.M.S.; Bonomo, R.C.F.; Veloso, C.M.; Fontan, R.d.C.I. Development of Supermacroporous Monolithic Adsorbents for Purifying Lectins by Affinity with Sugars. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2016, 1033–1034, 406–412.
10. Ourth, D.D.; Rose, W.M. Purification, Characterization and Seasonal Variation of Mannose-Binding C-Type Lectin in Ictalurid Catfish. *Aquaculture* 2011, 321, 191–196.
11. Jung, W.K.; Park, P.J.; Kim, S.K. Purification and Characterization of a New Lectin from the Hard Roe of Skipjack Tuna, *Katsuwonus Pelamis*. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2003, 35, 255–265.
12. Arora, S.; Saxena, V.; Ayyar, B.V. Affinity Chromatography: A Versatile Technique for Antibody Purification. *Methods* 2017, 116, 84–94.
13. Mallik, R.; Hage, D.S. Affinity Monolith Chromatography. *J. Sep. Sci.* 2006, 29, 1686–1704.
14. Pfau Miller, E.L.; Paulemond, M.L.; Dupper, C.M.; Hage, D.S. Affinity Monolith Chromatography: A Review of Principles and Recent Analytical Applications. *Anal. Bioanal. Chem.* 2013, 405, 2133–2145.
15. Ferreira da Silva, J.; Lemos da Silva, D.; Gomes Nascimento, R.; Ayra Alcântara Veríssimo, L.; Martins Veloso, C.; Ferreira Bonomo, R.C.; da Costa Ilhéu Fontan, R. Enhancements in Sugar Immobilization in Polymeric Macroporous Matrices for Affinity Capture. *J. Appl. Polym. Sci.* 2019, 136, 47956.
16. Gondim, A.C.S.; Romero-Canelón, I.; Sousa, E.H.S.; Blindauer, C.A.; Butler, J.S.; Romero, M.J.; Sanchez-Cano, C.; Sousa, B.L.; Chaves, R.P.; Nagano, C.S.; et al. The Potent Anti-Cancer Activity of *Dioclea Lasiocarpa* Lectin. *J. Inorg. Biochem.* 2017, 175, 179–189.
17. Suzuki, T.; Abe, T.; Umehara, K.; Choi, J.H.; Hirai, H.; Dohra, H.; Kawagishi, H. Purification and Characterization of a Lectin from the Mushroom *Hypsizygus Marmoratus*. *Mycoscience* 2015, 56,

359–363.

18. Selvaprakash, K.; Chen, Y.C. Functionalized Gold Nanoparticles as Affinity Nanoprobes for Multiple Lectins. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2018, 162, 60–68.
19. Matoba, Y.; Sato, Y.; Oda, K.; Hatori, Y.; Morimoto, K. Lectins Engineered to Favor a Glycan-Binding Conformation Have Enhanced Antiviral Activity. *J. Biol. Chem.* 2021, 296.
20. Gajbhiye, V.; Gong, S. Lectin Functionalized Nanocarriers for Gene Delivery. *Biotechnol. Adv.* 2013, 31, 552–562.
21. He, S.; Shi, J.; Walid, E.; Zhang, H.; Ma, Y.; Xue, S.J. Reverse Micellar Extraction of Lectin from Black Turtle Bean (*Phaseolus Vulgaris*): Optimisation of Extraction Conditions by Response Surface Methodology. *Food Chem.* 2015, 166, 93–100.
22. Lavín de Juan, L.; García Recio, V.; Jiménez López, P.; Girbés Juan, T.; Cordoba-Diaz, M.; Cordoba-Diaz, D. Pharmaceutical Applications of Lectins. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2017, 42, 126–133.
23. Santos, A.L.E.; Júnior, C.P.S.; Neto, R.N.M.; Santos, M.H.C.; Santos, V.F.; Rocha, B.A.M.; Sousa, E.M.; Carvalho, R.C.; Menezes, I.R.A.; Oliveira, M.R.C.; et al. *Machaerium Acutifolium* Lectin Inhibits Inflammatory Responses through Cytokine Modulation. *Proc. Biochem.* 2020, 97, 149–157.
24. Carrillo, C.; Cordoba-Diaz, D.; Cordoba-Diaz, M.; Girbés, T.; Jiménez, P. Effects of Temperature, PH and Sugar Binding on the Structures of Lectins Ebulin f and SELfd. *Food Chem.* 2017, 220, 324–330.
25. Singh, A.; Trans, K.S.-C.S. Effect of Temperature, PH and Denaturing Agents on Biological Activity of MCJ Lectin. *Chem. Sci. Trans.* 2013, 2.
26. Sharon, N.; Lis, H. Legume Lectins—A Large Family of Homologous Proteins. *FASEB J.* 1990, 4, 3198–3208.
27. Kanellopoulos, P.N.; Tucker, P.A.; Pavlou, K.; Agianian, B.; Hamodrakas, S.J. A Triclinic Crystal Form of the Lectin Concanavalin A. *J. Struct. Biol.* 1996, 117, 16–23.

Retrieved from <https://encyclopedia.pub/entry/history/show/100586>