

## LECTIN TỪ RONG BIỂN VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC

Lê Đình Hùng<sup>1</sup>, Bùi Minh Lý<sup>1</sup>, Võ Thị Diệu Trang<sup>1</sup>, Ngô Thị Duy Ngọc<sup>1</sup>, Ngô Đức Duy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup>Công ty Yến sào Khánh Hòa

### TÓM TẮT

Cho đến nay, hơn 800 mẫu rong biển đã được sàng lọc để phát hiện sự có mặt của lectin. Trong số đó, lectin từ hơn 50 mẫu rong biển bao gồm rong đỏ và rong lục đã được tinh chế và xác định tính chất hóa sinh. Không giống như lectin từ các nguồn khác, lectin từ rong biển có một số đặc tính chung như khối lượng phân tử thấp, tồn tại ở dạng monome, bền nhiệt và hoạt tính không phụ thuộc vào cation hóa trị hai, không có ái lực với các đường đơn nhưng có ái lực mạnh với các glycoprotein, đặc biệt là các glycoprotein trên bề mặt tế bào hoặc trên lớp vỏ của virus. Trong số các lectin đã được tinh chế, lectin liên kết với đường high-mannose từ rong đỏ *Caraganeophytes* đã cho thấy một số hoạt tính sinh học quan trọng như kháng u, kháng virus cúm, virus HIV và các vi khuẩn gây bệnh cho sinh vật biển. Kết quả cho thấy rằng lectin từ rong đỏ *Caraganeophyte* hứa hẹn trở thành thuốc kháng virus và ung thư trong tương lai.

**Từ khóa:** Lectin, đặc tính liên kết carbohydrate, hoạt tính sinh học, rong biển.

### MỞ ĐẦU

Lectin là protein có nguồn gốc không miễn dịch, có khả năng nhận biết và liên kết thuận nghịch với chuỗi carbohydrate trên bề mặt tế bào động vật, trên lớp vỏ của virus hoặc vi khuẩn và không làm thay đổi bất kỳ cấu trúc của các phối tử glycosyl hóa mà lectin liên kết. Lectin được tìm thấy rộng rãi trong tự nhiên từ sinh vật có nhân nguyên thủy, san hô, tảo, rong biển, nấm, vi khuẩn, virus, thực vật bậc cao đến động vật không có xương sống và có xương sống. Lectin cho thấy sự đa dạng trong cấu trúc phân tử và đặc tính liên kết carbohydrate của chúng, phụ thuộc vào nguồn gốc sinh vật. Do những tính chất hóa-sinh khác biệt, lectin đã có những ứng dụng trong một số lĩnh vực nghiên cứu như miễn dịch học, sinh học tế bào, kháng ung thư, kháng virus và cây trồng biến đổi gen (Sharon & Lis, 2003).

Cho đến nay, đã có trên 100 bài báo mô tả sự có mặt của lectin từ rong biển bao gồm rong đỏ, rong lục và rong nâu. So với lectin từ thực vật bậc cao, số lượng lectin từ rong biển đã được cô lập còn hạn chế kể từ khi thông báo đầu tiên về sự có mặt của lectin trong rong biển (Boyd et al. 1966). Hiện tại, khoảng 800 mẫu rong biển đã được sàng lọc để phát hiện lectin và hơn 50 mẫu lectin đã được tinh chế. Tuy nhiên, số lượng này vẫn còn nhỏ so với hàng ngàn mẫu rong biển đã được ghi nhận. Các kết quả sàng lọc đã cho thấy rằng khoảng 60% mẫu rong biển có hoạt tính ngưng kết hồng cầu. Số lượng các mẫu dương tính có thể cao hơn nhiều so với sự sàng lọc ban đầu nếu như các nhóm nghiên cứu dùng tế bào máu được xử lý enzyme. Sự cải tiến phương pháp chiết cũng như phương pháp xác định hoạt tính ngưng kết máu cũng đã làm tăng số lượng mẫu dương tính. Các kết quả nghiên cứu đã chứng minh rằng hồng cầu thử được với enzyme trypsin hoặc papain là sự chọn lựa tối nhất cho sự phát hiện lectin trong dịch chiết rong biển (Hung et al. 2009a, 2012).

Mục tiêu của bài báo là tập trung trên đặc tính của lectin từ rong biển và một số hoạt tính sinh học quan trọng nhằm thúc đẩy nghiên cứu và sử dụng lectin từ rong biển trong tương lai.

### PƯƠNG PHÁP

Rong biển sau khi được thu hoạch được loại bỏ các vật bám, rửa sạch bằng nước ngọt và được giữ ở -20°C cho đến khi dùng.

**Chiết, phát hiện và tinh chế lectin từ rong biển:**

Hầu hết các nghiên cứu khảo sát sự có mặt của lectin từ rong biển đều được tiến hành trên mẫu rong được nghiền đồng nhất trong dung dịch muối đẳng trương (NaCl 0,9%), sau đó kiểm tra hoạt tính ngưng kết máu của phần dịch chiết với hồng cầu người và động vật ở dạng tự nhiên và dạng được xử lý enzyme như trypsin, papain, bromelain hoặc subtilisin. Tác dụng chủ yếu của xử lý hồng cầu bằng enzyme là loại bỏ sialoglycoprotein trên bề mặt tế bào máu, làm suy yếu điện tích âm trên bề mặt của tế bào và phơi ra những thụ thể (receptor), mà nó làm cho lectin có thể tương tác dễ dàng với tế bào máu.

Do đặc tính liên kết mạnh với các glycoprotein, nên hầu hết lectin từ rong biển đều được tinh chế theo phương pháp tinh chế protein truyền thống như kết tủa bằng muối sulfat amon hoặc etanol, sắc ký lỏng và điện di. Sắc ký trao đổi ion cũng đã được sử dụng hiệu quả để cô lập lectin từ rong biển, chủ yếu sử dụng trong các tinh chế ban đầu để tách lectin ra khỏi các hợp chất màu phycobillin trong dịch chiết mà nó là chất nhiễm bẩn không mong muốn trong quá trình tinh chế (Rogers et al. 1988).

### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

**Một vài tính chất của lectin từ rong biển**

33 lectin từ rong đỏ (Rhodophyta) và 18 lectin từ rong lục (Chlorophyta) đã được tinh chế và đánh giá tính chất hóa sinh. Sự vắng mặt của lectin được cô lập từ rong nâu (Phaeophyta) là do số lượng các hợp chất polyphenol có mặt trong rong nâu được chiết ra trong dịch chiết và các sản phẩm oxy hóa của chúng như quinone đã liên kết với protein gây ra hiện tượng ngưng kết máu giả (Blunden et al. 1986).

Hiện tại chỉ có 14 trình tự acid amino đầy đủ của lectin từ rong biển được xác định và 3 công bố về gen mã hóa lectin từ rong biển bao gồm rong lục *Ulva pertusa* (Wang et al. 2004), *Boodlea coacta* (Sato et al. 2011b), và *Bryopsis plumosa*



**Lectin từ rong biển và khả năng sử dụng trong y sinh**

Trong nghiên cứu ung thư, lectin ESA từ rong đỏ *Eucheuma serrae* đã được chứng minh làm chết tế bào ung thư tuyến ruột kết người *in vitro* (Colo201 cells) (Sugahara et al. 2001) làm chết tế bào ung thư ruột kết (Colon26) từ chuột BALB/c qua con đường làm chết tế bào theo lập trình (apoptosis) *in vitro* (Fukuda et al. 2006) và gây chết tế bào ung thư HeLa. Lectin ESA cũng đã được chứng minh làm giảm khả năng sống sót của tế bào ung thư Colo201 *in vitro*, nhưng không ảnh hưởng đến sự phát triển của các tế bào bình thường (Omokawa et al. 2010) và hoạt tính kháng các chất gây ung thư (Sugahara et al. 2001) hoặc lectin hypnin A từ rong đỏ *Hypnea japonica* đã nhận biết đặc hiệu lõi fucose (α1-6) (Okuyama et al. 2009) mà nó là chất chỉ thị quan trọng để nhận biết ung thư gan và tụy (Miyoshi & Nakano, 2008)

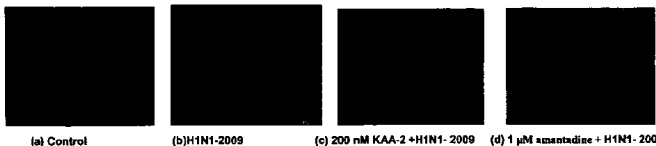
Lectin từ rong đỏ *Bryothamnion seaforthii* lectin (BSL) và *Bryothamnion triquetrum* lectin (BTL) có thể phân biệt sự khác nhau của các biến thể tế bào ung thư ruột kết tràng của người (Hình 2). Phân biệt sự khác nhau trong chức năng của các thụ thể glyco trên màng tế bào, có thể được khai thác để khảo sát sự cải biến cấu trúc của các glyco liên hợp trên màng tế bào trong hệ thống ung thư tế bào. Liên kết của cả hai lectin với tế bào ung thư đã cho kết quả trung hòa tế bào ung thư, mà nó là tính chất rất quan trọng để sử dụng trong tương lai cũng như chất phân phát thuốc (Pinto et al. 2009).



Hình 2: Tương tác của lectin BSL từ rong đỏ *Bryothamnion seaforthii* (a), và lectin BTL từ rong *Bryothamnion triquetrum* với biến thể của tế bào khối u ruột kết (Pinto et al. 2009)

Liên quan đến hoạt tính phân bào, lectin từ rong đỏ *Carpopeltis flabellate* (Camin), và lectin từ rong *Eucheuma serrae* cũng đã cho thấy hoạt tính phân bào đối với lympho bào T và B của người và chuột ở nồng độ µg/ml (Kawakubo et al. 1999).

Hoạt tính kháng khuẩn của lectin cũng đã được đánh giá, lectin từ *Eucheuma serrae* (ESA) và *Galaxaura marginata* (GMA) đã có hoạt tính kháng sinh. ESA và GMA đã ức chế mạnh sự phát triển của vi khuẩn biển *Vibrio vulnificus*, một vi khuẩn gây bệnh cho cá, nhưng không tương tác với vi khuẩn *V. neresis* và *V. pelagius* (Liao et al. 2003).



Hình 3: Sự ức chế virus cúm A (Oita/OU1 P3-3/09 H1N1) xâm nhập vào tế bào MDCK (Madin-darby canine kidney của lectin KAA-2 từ rong *Kappaphycus alvarezii*. (a) tế bào MDCK bình thường, (b) tế bào MDCK bị nhiễm virus cúm H1N1; (c) lectin KAA-2 tương tác với virus cúm H1N1; (d) tương tác của thuốc amantadine với virus cúm H1N1 (Sato et al. 2011a).

Liên quan đến hoạt tính kháng virus, lectin KAA-2 từ rong *Kappaphycus alvarezii* đã có hoạt tính ức chế mạnh sự lây nhiễm của các dòng virus cúm (H1N1 và H3N2) ở nồng độ nanomol (Sato et al. 2011a) (Hình 3), và lectin BCA từ rong lục *Boodlea coacta* cũng đã cho thấy hoạt tính mạnh kháng lại virus HIV và virus cúm H1N1 (Sato et al. 2011b) (cả hai lectin liên kết đặc hiệu với N-glycan dạng high-mannose), hoặc lectin từ *Griffithsia* sp. (GRFT) là một lectin liên kết đặc hiệu với đường mannose mà nó tương tác với chuỗi carbohydrates trên lớp vỏ glycoprotein của virus HIV và khóa virus xâm nhập vào tế bào chủ, lectin GRFT cũng ức chế sự hoạt động của tác nhân gây hội chứng viêm đường hô hấp cấp (SARS) và virus corona (SARS-CoV) (O'Keefe et al. 2010).

Với các kết quả đạt được trong nghiên cứu lectin từ rong biển, trong tương lai khả năng phát triển và sử dụng lectin từ rong biển có thể theo các hướng sau:

- Phát triển chip lectin để xác định cấu trúc của carbohydrate, do lectin từ rong biển có thể nhận biết các cấu trúc carbohydrate khác nhau, và dùng chúng cũng như sensor.
- Phát triển lectin cũng như liệu pháp chẩn đoán bệnh, cho phép chẩn đoán sớm và phát hiện các mẫu vi khuẩn gây bệnh và đánh dấu bệnh.
- Phát triển lectin thành thuốc kháng virus HIV, virus cúm hoặc kháng ung thư. Đây là một trong những sử dụng đang được quan tâm nhất hiện nay, do lectin có thể ngăn chặn sự lây nhiễm của virus và có thể mang thuốc đến tế bào ung thư một mình.

- Omokawa Y, Miyazaki T, Walde P, Akiyama K, Sugahara T, Masuda S, Inada A, Ohnishi Y, Seeki T, Kato K (2010) *In vitro and in vivo anti-tumor effects of novel Span 80 vesicles containing immobilized Eucheuma serra agglutinin*. Int J Pharm. 15: 157-167.
- Pinto VP, Debray H, Dus D, Teixeira EH, de Oliveira TM, Cameiro VA, Teixeira AH, Fiho GC, Nagano CS, Nascimento KS, Sampaio AH, Cavada BS (2009) *Lectins from the Red Marine Algal Species Bryothamnion seaforthii and Bryothamnion triquetrum as Tools to Differentiate Human Colon Carcinoma Cells*. Adv Pharmacol Sci. 2009: 862162.
- Rogers DJ, Fish B, Barwell CJ, Loveless RW (1988) *Lectins from marine algae associated with photosynthetic accessory proteins*. In: International Lectin Meeting, Berlin/New York. Proceedings of the 9th Lectin Meeting. Berlin/New York: Walter de Gruyter. 6: 373-376.
- Sharon N, Lis H (2003) *Lectins* (second edition), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands
- Sato Y, Morimoto K, Hirayama M, Hori K (2011a) *High mannose-specific lectin (KAA-2) from the red alga Kappaphycus alvarezii potently inhibits influenza virus infection in a strain-independent manner*. Biochem. Biophys. Res. Com. 405, 291-296
- Sato Y, Hirayama M, Morimoto K, Yamamoto N, Okuyama S, Hori K (2011b) *High mannose-binding lectin with preference for the cluster of  $\alpha$ 1-2-mannose from the green alga Boodlea coacta is a potent entry inhibitor of HIV-1 and influenza viruses*. J. Biol. Chem. 286, 19446-19458.
- Sugahara T, Ohama Y, Fukuda A, Hayashi M, Kato K (2001) *The cytotoxic effect of Eucheuma serra agglutinin (ESA) on cancer cells and its application to molecular probe for drug delivery system using lipid vesicles*. Cytotechnology 36: 93-99.
- Wang S, Zhong FD, Zhang YJ, Wu ZJ, Lin QY, Xie LH (2004) *Molecular characterization of a new lectin from the marine alga Ulva pertusa*. Acta Biochim Biophys Sinica 36: 111-117
- Yoon KS, Lee KP, Klochkova TA, Kim GH (2008) *Molecular characterization of the lectin, Bryohealin, involved in protoplast regeneration of marine alga Bryopsis plumosa (Chlorophyta)*. J Phycol 44: 103-112.

## LECTINS FROM MARINE ALGAE AND BIOLOGICAL ACTIVITIES

Le Dinh Hung<sup>1</sup>, Bui Minh Ly<sup>1</sup>, Vo Thi Dieu Trang<sup>1</sup>, Ngo Thi Duy Ngoc<sup>1</sup>, Ngo Duc Duy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Nhatrang Institute of technology Research and Application, Vietnam Academy of Science and Technology

<sup>2</sup>Khanhhoa Salanganes Nest Company

### SUMMARY

Until now, more 800 species of marine algae were screened to detect the present of lectin. Among them, more fifty kinds of isolated lectins from species of marine algae, including Chlorophyta and Rhodophyta, were evaluated for their biochemical properties. Unlike lectins from other origins, lectins from marine algae have some common features such as low-molecular weight, monomeric forms, thermostable and metal-independent hemagglutininations, no affinity for monosaccharides, but strong specificity for complex oligosaccharides and/or glycoproteins, especially glycoproteins on surface of cells and on viral envelopes. Among the isolated lectins from marine algae, high-mannose binding lectins from red algae, carrageenophytes, showed strong activities against tumour, human immunodeficiency virus (HIV), various influenza viruses and pathogenic vibrios for marine organisms. The results indicate that lectins from marine algae carrageenophytes are promising to be antitumor and antiviral reagents in future.

**Keywords:** Lectin, carbohydrate-binding specificity, biological activities, marine algae

\* Author for correspondence: Tet: +84-58-3521133; Email: ledinhhungjms@yahoo.co.uk