

As múltiplas funções das lectinas vegetais

The multiple functions of plant lectins

ABSTRACT

POVINELI, K.L.; FINARDI FILHO, F., The multiple functions of plant lectins. *Nutrire; rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.= J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP, , v.24, p.135-156, dez., 2002

This paper focuses on the biochemical and molecular features of plant lectins as well as their functional and biotechnological application, by means of the understanding of specific lectin-carbohydrate interactions. The current knowledge about plant lectins helps to understand the physiological role, the plant's self-protection mechanisms, and its toxic action on predators, as well as permitting the development of diagnostic techniques and the design of new quimeric genes to be expressed on modified plants.

Keywords: lectins, plant proteins, protein-carbohydrate interaction, molecular structure

**KAREN LENTINI
POVINELI' E FLAVIO
FINARDI FILHO²**

^{1,2} Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo

Endereço para correspondência:

Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo. Av. Prof. Lineu Prestes, 580 – 05508-900 São Paulo SP, Brasil

Agradecimentos:

À FAPESP pelo apoio financeiro processo nº 95/03862-3. À CAPES pela bolsa de mestrado. À Kílvia Craveiro e Renato A. Moreira do Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Ceará

RESUMEN

El texto se dedica al estudio de algunos aspectos bioquímicos y funcionales de las lectinas vegetales. Trata en especial de la caracterización molecular y de la aplicación biotecnológica de tales proteínas, a través del conocimiento de la especificidad de las interacciones proteína-carbohidrato. El conocimiento actual contribuye a aclarar el carácter fisiológico de las lectinas, los mecanismos internos de protección de la planta y la acción tóxica sobre los predadores. De igual manera, tal conocimiento permite el desarrollo de técnicas de diagnóstico y abre la posibilidad de que se proyecten formas nuevas de expresión en las plantas genéticamente modificadas.

Palabras-clave: lectinas, proteínas vegetales, interacción proteína-carbohidrato, estructura molecular

RESUMO

O trabalho aborda aspectos bioquímicos e funcionais das lectinas vegetais com ênfase na caracterização molecular e na aplicação biotecnológica dessas proteínas, através do conhecimento da especificidade das interações proteína-carbohidrato. O conhecimento atual ajuda a esclarecer o papel fisiológico das lectinas, os mecanismos internos de proteção da planta e a ação tóxica sobre predadores, bem como permite o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico e possibilita o delineamento de novas formas de expressão em plantas geneticamente modificadas.

Palavras-chave: lectinas, proteínas vegetais, interação proteína-carbohidrato, estrutura molecular

INTRODUÇÃO

As lectinas constituem um grupo de proteínas presentes em organismos vivos distintos, sobretudo em vegetais. Por serem proteínas com altas taxas de expressão em plantas e que se caracterizam pela ação sobre outros organismos vivos, as lectinas continuam sendo estudadas, ganhando grande importância científica e prática em diversos campos do conhecimento em pouco mais de um século após seu descobrimento. Uma importante revisão histórica foi publicada por SHARON e LIS (1987).

Inicialmente identificadas como proteínas tóxicas, as lectinas tornaram-se ferramentas indispensáveis em diagnósticos de doenças, de tipagem sanguínea e de identificação de cepas de microrganismos. Elas têm dado suporte a estudos moleculares, estruturais, genéticos e de fisiologia vegetal entre outros, através do detalhamento das interações proteína-proteína e proteína-carboidrato. No entanto, as reações adversas causadas por lectinas continuam sendo uma linha de investigação acadêmica em vegetais empregados como alimentos, seja entre os convencionais, ou entre os novos produtos, identificados em plantas consideradas exóticas ou recém domesticadas.

Este trabalho apresenta a resenha de uma parcela do conhecimento acumulado sobre as lectinas de vegetais e suas diversas funções, desde as evidências de ação tóxica, passando pelo papel desempenhado na tipagem e caracterização celular, até atingir as mais recentes descobertas como participantes de mecanismos de transdução de sinal e a transferência de genes para outras culturas com a finalidade de aumentar o potencial de resistência ao ataque de insetos.

CONCEITUAÇÃO

O conceito atualmente mais aceito para a definição de lectinas coloca-as como proteínas ligantes de carboidratos, de origem não imune, aglutinantes de células e glicocojugados, com capacidade de reconhecimentos específicos e de manter ligações reversíveis com carboidratos e substâncias contendo açúcares, sem alterar a estrutura covalente de alguns ligantes glicosílicos (GOLDSTEIN *et al.*, 1980).

Esta definição, porém, exclui algumas proteínas que apresentam homologia estrutural e capacidade de ligação a carboidratos de modo semelhante à ligação das lectinas, mas de característica monovalente. Assim, essas proteínas possuem apenas um sítio para a ligação com açúcar e, portanto, não têm capacidade aglutinante, como por exemplo, as toxinas ricina e abrina (MOREIRA *et al.*, 1991).

De acordo com a nova definição, todas as proteínas de plantas que possuem no mínimo um domínio não catalítico que se liga reversivelmente a mono ou oligossacarídeos específicos são consideradas lectinas (SHARON e LIS, 1990). Assim, foi possível incluir um número grande de proteínas com diferentes capacidades de aglutinação e com propriedades de precipitar glicocojugados, levando seus autores a subdividirem as lectinas em três classes:

I. As merolectinas são proteínas contendo exclusivamente um único domínio ligante a carboidratos. São proteínas polipeptídicas simples, que devido a sua estrutura monovalente são incapazes de precipitar glicoconjugados ou aglutinar células. Exemplos bem conhecidos deste grupo são as heveínas, lectinas de *Hevea brasiliensis* (PARIJS *et al.*, 1991) e as proteínas ligantes monoméricas de orquídeas (PEUMANS e VAN DAMME, 1995).

II. As hololectinas também são formadas por um único domínio ligante a carboidratos, mas contêm dois ou mais desses domínios que podem ser idênticos ou muito homólogos. Este grupo compreende todas as lectinas que têm múltiplos sítios de ligação e, em função dessas características, são capazes de aglutinar células ou precipitar glicoconjugados. Obviamente a maioria das lectinas de plantas conhecidas são hololectinas, por isso comportam-se como hemaglutininas.

III. As quimerolectinas são proteínas que, além do domínio ligante a carboidrato, possuem um outro domínio não relacionado com este. O segundo domínio pode ter uma atividade catalítica ou uma outra atividade biológica bem definida agindo independentemente do domínio de ligantes de carboidratos. Em função do número de sítios de ligações a açúcares, as quimerolectinas agem como merolectinas ou hololectinas (PEUMANS e VAN DAMME, 1995). As RIPs tipo II, sigla das proteínas inativadoras de ribossomos, e as quitinases tipo I de plantas, exemplificam respectivamente os dois casos citados.

OCORRÊNCIA E NOMENCLATURA

As lectinas estão distribuídas amplamente na natureza, sendo encontradas em todas as classes e famílias dos organismos vivos, desde microorganismos, até animais vertebrados e invertebrados e plantas (SHARON e LIS, 1989).

Entre as plantas, as lectinas têm sido relatadas e purificadas de folhas, frutos, raízes, tubérculos, rizomas (PEUMANS *et al.*, 1985), bulbos, cascas, caules (VAN DAMME *et al.*, 1987) e predominantemente de sementes de muitas plantas (BOLINI e CHRISPPEELS, 1978; WANG e NG, 1998), onde elas constituem até 10% do conteúdo total de proteínas de extratos de sementes maduras (PEUMANS e VAN DAMME, 1995). A maioria das lectinas de sementes maduras de leguminosas está localizada nos cotilédones que funcionam como reserva de nutrientes, usados durante sua germinação.

Com relação à nomenclatura não existe uma padronização sistemática adotada para as lectinas, resultando no uso de critérios mistos e distintos. Por exemplo, as designações similares à denominação científica ou ao nome vulgar das espécies das quais elas foram purificadas são muito freqüentes. Apesar de essas denominações terem caráter histórico, algumas novas lectinas tiveram seus nomes escolhidos seguindo essa tendência, conforme mostra a Quadro 1.

ESPECIFICIDADES E FUNÇÕES

A especificidade das lectinas é usualmente estabelecida pelo ensaio de inibição de haptenos em que diferentes carboidratos são testados em sua habilidade em inibir a

Quadro 1 Denominação de algumas lectinas

Lectina	Espécie	Nome Vulgar	Relatado por *
Abrina	<i>Abrus precatorius</i>	jequiriti	Erlich, 1881
Con A	<i>Canavalia ensiformis</i>	feijão-de-porco	Somner e Howell, 1936
Crotina	<i>Croton tiglium</i>	—	Stillmark, 1888
Favina	<i>Vicia faba</i>	fava	Boyd e Reguera, 1949
Frutalina	<i>Arthocarpus incisa</i>	fruta-pão	Moreira <i>et al.</i> , 1998
Heveina	<i>Hevea brasiliensis</i>	seringueira	Van Parijs <i>et al.</i> , 1991
Jacalina	<i>Arthocarpus integrifolia</i>	jaca	Young <i>et al.</i> , 1989
PHA	<i>Phaseolus vulgaris</i>	feijão comum	Nowel, 1960
Ricina	<i>Ricinus communis</i>	mamona	Stillmark, 1888

* Segundo SHARON e LIS, 1987

hemaglutinação ou a precipitação de polissacarídeos ou glicoconjugados pela lectina. A especificidade de uma lectina é definida em termos dos monossacarídeos que melhor inibem a reação de aglutinação (RAY *et al.*, 1992). Apesar da baixa precisão, trata-se da mais simples e usada técnica. De acordo com a especificidade as lectinas foram classificadas em quatro grupos, conforme a configuração relativa dos carboidratos 3 e 4 (C₃ e C₄) do anel piranosídico dos monossacarídeos inibidores. Grupo I: L-fucose; Grupo II: galactose/N-acetil-galactosamina; Grupo III: glicose/manose; Grupo IV: idose, gulose, L-glicose e L-xilose.

Deve-se ressaltar que até o momento nenhuma lectina isolada se mostrou inibida por açúcares pertencentes ao grupo IV. Por outro lado, o isolamento de lectinas que se mostravam fortemente inibida por N-acetilglicosamina e ácido-N-acetilneuramínico levaram à inclusão desses açúcares em dois grupos complementares (MOREIRA *et al.*, 1991).

Apesar de muitas investigações, o papel fisiológico das lectinas ainda não está bem estabelecido (VOZARI-HAMPE *et al.*, 1992). Sua localização e seu comportamento durante o ciclo de vida da planta são de extrema importância para evolução de algumas hipóteses sobre suas funções. Entre os mais destacados, está o de reconhecimento celular, que se manifesta de maneira distinta em diferentes órgãos e tecidos do mesmo organismo.

Outras funções são atribuídas às lectinas como, transporte e armazenamento de carboidratos e sua fixação na planta, alongação da parede celular e regulação de crescimento, reconhecimento dos receptores de membrana, mitose induzida na formação celular e protoplasto, morfogênese embrionária, fagocitose e proteção celular, exercendo função enzimática ou como proteína de reserva (KNOX *et al.*, 1976), e como mediadoras da simbiose entre bactérias fixadoras de nitrogênio e raízes de leguminosas (BOHLOOL e SCHMIDT, 1974). E por fim, participando da proteção de plantas contra patógenos e predadores (CHRISPEELS e RAIKHEL, 1991).

A simbiose que ocorre entre leguminosas e bactérias do gênero *Rhizobium* é de alta especificidade, através da adesão das bactérias às raízes. O mecanismo de indução à fixação de nitrogênio nos nódulos em raízes de leguminosas, nas bactérias dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, é hospedeiro-específico da planta. Esta especificidade é expressa nos estágios iniciais do processo de infecção, envolvendo múltiplas interações entre mediadores da bactéria e da planta. Dentre os mediadores do vegetal, sugere-se que as lectinas de raízes reconheçam moléculas receptoras em bactérias, determinando a especificidade pelo hospedeiro.

Esta hipótese tornou-se bastante evidente pelo trabalho de DIAZ *et al.* (1989), que utilizaram técnicas de recombinação gênica, introduzindo em trevo branco (*Trifolium repens L.*) o gene que codifica a lectina de ervilha (*Pisum sativum*). As plantas transgênicas obtidas foram noduladas pela bactéria *Rhizobium leguminosarum*, que antes nodulava especificamente a ervilha. Os resultados mostraram que a interação *Leguminosae-Rhizobium* é, pelo menos parcialmente, determinada por interações raiz-lectina.

Sugestivas evidências para um papel da lectina têm surgido da interação lectina-fungo. MIRELMAN *et al.* (1975), mostraram que a lectina de germe de trigo liga-se a hifas de *Trichoderma viride*, um fungo que contém quitina e glicanos na parede das hifas. A lectina inibiu o crescimento e a germinação dos esporos do fungo, aparentemente interferindo na síntese de quitina da parede. A heveína, uma proteína com características de lectina, encontrada em látex de seringueira, *Hevea brasiliensis*, interagiu com moléculas precursoras de quitina impedindo a formação e a renovação da quitina das paredes das hifas (PARIJS *et al.*, 1991).

A metabolização mais tardia de algumas lectinas e a inibição do crescimento de fungos patógenos por outras sugere um papel de proteção, durante os primeiros estágios de desenvolvimento da planta, como a embebição, a semeadura e a germinação inicial das sementes (MIRELMAN *et al.*, 1975).

No caso da lectina de germe de trigo (WGA), esta hipótese torna-se mais evidente pelo fato de a lectina estar localizada na superfície de células mais susceptíveis à infecção (MISHKIND *et al.*, 1982). As altas concentrações de lectinas em muitas sementes e as evidências de que apreciáveis quantidades de lectinas são exudadas de sementes para o meio externo, durante a germinação, também reforça esta hipótese. Resultados similares foram comprovados por KJEMTRUP *et al.* (1995) em células germinativas de raízes do feijoeiro, nas quais apenas a forma PHA-E é sintetizada e pode ser encontrada no meio, junto às raízes. Os autores não constataram a presença de mRNA da forma PHA-L, como ocorre nos cotilédones.

GIBSON *et al.* (1982) encontraram níveis mais altos de lectinas presentes em sementes de cultivares de soja resistentes ao ataque pelo fungo *Phytophthora megasperma* var. *sojae* do que em sementes de cultivares susceptíveis e que a lectina era exudada das sementes para a água de embebição, rapidamente e em grandes quantidades, do que naqueles cultivares resistentes.

Outro papel importante das lectinas está ligado aos mecanismos de defesa das plantas contra o ataque de insetos que se atribui principalmente às lectinas que se ligam à quitina, um polissacarídeo de N-acetilglicosamina, que constitui um elemento estrutural importante na parede celular de muitos fungos fitopatogênicos, do exoesqueleto e do trato digestivo dos insetos e da cutícula de nematóides (LERNER e RAIKHEL, 1992). As células epiteliais ao longo do trato digestivo de insetos fitofágicos são diretamente expostas ao conteúdo da dieta, por essa razão são possíveis alvos para proteínas de defesa de plantas. As glicoproteínas são as maiores constituintes destas membranas que podem ser sítios de ligação das lectinas. A formação do complexo provoca no local um efeito deletério, ou sistêmico; em consequência o inseto pode ser repellido, pode ter seu crescimento retardado ou não atingir a fase adulta (PEUMANS e VAN DAMME, 1995). Assim, tais lectinas caracterizam-se como verdadeiros compostos biostáticos ou biocidas para tais insetos, nas concentrações em que são presentes nas plantas.

FATORES QUE INFLUENCIAM A ATIVIDADE

Muitos são os fatores que influenciam a atividade das lectinas, tais como íons, pH e tratamentos térmicos. Com algumas poucas exceções, todas as lectinas necessitam de íons para sua atividade. Assim, lectinas de leguminosas contêm Mn^{2+} e Ca^{2+} , elementos essenciais para sua atividade. Por exemplo, o tratamento de concanavalina A, Con A, em meio ácido remove essencialmente os íons metálicos, destruindo sua capacidade de se ligar a carboidratos. A forma ativa pode ser retomada adicionando-se os íons em uma ordem estabelecida: primeiro Mn^{2+} e depois o Ca^{2+} (SHARON e LIS, 1990).

Os metais conferem um alto grau de estabilidade estrutural à Con A, protegendo as lectinas contra a inativação pelo calor (DOYLE *et al.*, 1975). A presença de Ni^{2+} , isoladamente de outros metais no meio, protege a Con A contra proteólises em pH 7,0, mas não em pH 8,2. Adicionalmente, o fator pH pode ser de grande importância sobre a atividade de lectinas. O aumento do pH de 2,0 para 7,0 resulta em diminuição da capacidade de aglutinar hemáceas, conhecida por atividade hemaglutinante ou AH, de lectina de sementes de *Ficus cunia*, torna-se nula em pH 8,0 e pode ser restabelecida pela diminuição gradativa do pH até 2,0 (RAY *et al.*, 1992).

A estabilidade térmica das lectinas é bastante variável. Lectinas de diversas fontes mostraram-se estáveis após serem mantidas congeladas por meses ou anos, após sucessivos congelamentos e descongelamentos (CORREIA e COELHO, 1995) ou mantidas por poucos dias em temperatura ambiente (RAY *et al.*, 1992). A estabilidade de lectinas isomórficas é em geral coerente entre os componentes de uma mesma espécie. Pode-se citar o exemplo das lectinas de *R. communis*, RCA I e RCA II que apresentam estabilidade térmica e mudanças de atividade em função do pH, bastante similares. Ambas, perdem 50% da atividade a 65°C e são totalmente inativadas a 85°C por 3 horas e, em condições normais, mantêm suas atividades entre pH 3,0 e 9,0 (NICOLSON *et al.*, 1974).

São ainda exemplos de comportamento similar as isolectinas I e II do pinhão,

semente do pinheiro *Araucaria brasiliensis*. Ambas sofrem mudanças de atividade pela ação de EDTA, porém a AH é aumentada com adição de Ca^{2+} e Mn^{2+} . Além disso, elas mantêm suas AH estáveis nas faixas de pH 5,5 a 7,5, para I e 6,5 a 7,5 para II, e são inativadas em pH 10,5. A estabilidade térmica das duas lectinas também é semelhante, pois as AHs são mantidas quando tratadas a 30°C, por 30 min, e totalmente perdidas a 80°C (DATTA *et al.*, 1991).

Os casos de isomorfismo com atividades e parâmetros de estabilidade semelhantes indicam pequenas diferenças moleculares entre as formas, podendo ser fruto de transformações pós-tradução, como proteólise ou glicosilação diferenciada, e de duplicidade de genes, durante os processos de cruzamento e melhoramento genético de variedades comerciais.

A estrutura das lectinas tem destacado papel regulador nas atividades hemaglutinantes e citotóxicas (LORIS *et al.*, 1998). Em trabalhos que promoveram mutagênese das cadeias protéicas de lectinas foi possível constatar a participação de resíduos de aminoácidos localizados em alças laterais de domínios específicos. Por exemplo, mutações dirigidas em ricina puderam comprovar que coexistem três sítios de ligação de galactose em subdomínio da cadeia B (FRANKEL *et al.*, 1996). Sob essas condições de alteração molecular nos subdomínios 1 α , 1 β e 2 γ há redução da citotoxicidade da subunidade RTB, enquanto a RTA não é afetada.

CARACTERÍSTICAS MOLECULARES

Como as lectinas constituem um grupo heterogêneo de proteínas são também múltiplas as formas e as propriedades moleculares encontradas em plantas distintas. A começar pela massa molecular que pode variar de 3,5 KDa para a *Crotalaria striata* (SIKDAR *et al.*, 1990) até 480 KDa para *Aegopodium podagraria* (PEUMANS *et al.*, 1985). Algumas lectinas são muito distintas em sua estrutura, composição de aminoácidos, tamanho e volume da molécula, e conteúdo de íons e de carboidratos.

De maneira geral as lectinas vegetais são compostas por subunidades, idênticas ou não, que variam de dois a quatro monômeros por moléculas, sendo raras as formas monoméricas, como é o caso da lectina da batata. Algumas lectinas são diméricas, como a do germe de trigo (WGA) com duas subunidades idênticas e peso molecular de 21,6 KDa e a ricina, com duas subunidades distintas e peso molecular de 63 KDa. A mais comum, no entanto, é a forma tetramérica, como das lectina de *Canavalia ensiformis* e de *Dioclea grandiflora*, ambas com 4 subunidades idênticas.

A Con A é um tetrâmero composto por uma mistura de subunidades de cadeia polipeptídica única, com 237 resíduos, e de subunidades fragmentadas em duas cadeias complementares e idênticas à anterior, com uma falha na ligação peptídica entre os resíduos 118 e 119 (CHRISPEELS *et al.*, 1986). Apesar de não estarem ligados covalentemente, os dois fragmentos, denominados beta e gama, são mantidos juntos por ligações não covalentes e formam um protômero cuja estrutura tridimensional é essencialmente a mesma da

subunidade formada pela cadeia polipeptídica íntegra (SHARON e LIS, 1989).

A dissociação entre estas subunidades pode ser irreversível, na presença de detergentes como SDS, ou reversíveis, na presença de cloridrato de guanidina, como nos casos de PHA e WGA, e além disso, modificações químicas também podem afetar a estrutura da subunidade e, em decorrência, a conformação protéica. Deve-se destacar que os padrões de associação entre as subunidades podem variar de acordo com o pH em que elas se encontrem. Entre pH 5,0 e 8,0 a lectina de *Dioclea grandiflora* apresenta-se como um tetrâmero com massa molecular aparente de 100 KDa. Em pH inferior, a lectina é encontrada na forma de dímero e em valores de pH acima de 8,0, ela forma agregados (MOREIRA *et al.*, 1985).

As lectinas de leguminosas podem ser encontradas em diferentes formas moleculares. Em *Phaseolus vulgaris*, a PHA é formada por dois tipos de subunidades, denominadas E (31,7 KDa) e L (29,9 KDa), produtos de genes distintos. Estas duas subunidades se associam em várias proporções, dando origem a uma família de cinco isolectinas: E₄, L₁E₃, L₂E₂, L₃E₁ e L₄. Vale destacar que a forma E₄ é uma potente eritroaglutinina e a L₄ possui forte ação mitogênica, enquanto as formas intermediárias apresentam ambas as propriedades em graus diferenciados (SHARON e LIS, 1989). Os dois tipos de subunidades, E e L, que constituem as isolectinas da PHA diferem em suas composições nos resíduos amino-terminais e nos pontos isoeletrônicos.

Algumas lectinas apresentam outra característica, que parece ser comum àquelas de plantas pertencentes à sub-tribo *Diocleinae*, de possuírem algumas subunidades quebradas em fragmentos. O principal ponto de clivagem, tanto na lectina de *Canavalia ensiformis* (WANG *et al.*, 1971), como na lectina de *Dioclea grandiflora* (AINOUZ *et al.*, 1987), duas lectinas desta sub-tribo que apresentam elevado grau de homologia, é entre os aminoácidos Asn (118) e Ser (119), produzindo duas subunidades quase simétricas na cadeia de 237 aminoácidos. Outras lectinas da mesma família apresentam perfis semelhantes, evidenciados por eletroforese em gel de poli(acrilamida) em presença de SDS e β-mercaptoetanol, como nos casos das lectinas de *Canavalia brasiliensis*, *Dioclea sclerocarpa* (MOREIRA *et al.*, 1985) e *Cratylia floribunda* (OLIVEIRA *et al.*, 1991).

Formas moleculares múltiplas de lectinas, resultantes de mobilidades eletroforéticas distintas, são atribuídas a pequenas modificações da estrutura primária, como diferenças nas cadeias laterais e nos carboidratos de glicolectinas. Podem ser formadas anteriormente ou durante o isolamento da lectina; como um resultado das modificações nas cadeias, assim como hidrólise do grupo amida, de glutamina ou asparagina, das proteínas (SHARON e LIS, 1989). Se a heterogeneidade da origem genética não foi definida, o termo isoforma pode ser próprio para formas moleculares de lectinas presentes em uma mesma espécie (PAIVA e COELHO, 1992).

Como visto, não existem aspectos estruturais comuns para todas as lectinas. As lectinas de vegetais superiores são ricas em aminoácidos ácidos, Asp e Glu, e hidroxilados, Ser e Thr, os quais em conjunto podem representar até mais de 30% do conteúdo de aminoácidos e são pobres ou destituídos de aminoácidos sulfurados, com poucas

exceções como as lectinas de germe de trigo e de batata que são ricas em cisteína com 20,0% e 11,5% dos resíduos, respectivamente. A maioria das lectinas, são glicoproteínas, com teores de açúcares variando muito e em alguns casos chegando a 50%, como é o caso da lectina da batata *Solanum tuberosum* (SHARON e LIS, 1989).

Na Con A, uma das mais estudadas com relação a sua dependência por metais, a associação dos íons à estrutura protéica tridimensional ocorre em etapas. Primeiro, o íon Mn^{2+} se liga a um sítio para metais denominado S1, induzindo a formação de um segundo sítio S2, onde o íon Ca^{2+} será ligado. A ocupação dos sítios metálicos por estes íons de alguma maneira modifica a estrutura da proteína, de forma a conferir à mesma o reconhecimento ao carboidrato ao qual a lectina tem afinidade (SHARON e LIS, 1990).

O sítio S1 é formado pelos resíduos Glu 8, Asp 10, Asp 19, His 24 e duas moléculas de água. Os resíduos Val 32 e Ser 34 estão envolvidos de forma indireta na ligação dos íons Mn^{2+} . Cada um destes resíduos estabelece uma ponte de hidrogênio com uma das duas moléculas de água que estão interagindo diretamente com o íon. O sítio S2 é formado pelos resíduos Asp 10, Asn 19, Tyr 12 e duas moléculas de água, diferentes das moléculas de água do sítio S1. Os resíduos Asp 208 e Arg 228 estão envolvidos diretamente, cada um estabelecendo uma ponte de hidrogênio com uma das duas moléculas de água do sítio S2. Dois resíduos, Asp 10 e Asp 19, são compartilhados pelos dois cátions (HARDMAN e AINSWORTH, 1972; LORIS et al., 1998).

A ligação de Mn^{2+} ao sítio S1 da apo-Con A, a proteína desmetalizada, induz a uma mudança conformacional na proteína que resulta na formação do sítio S2. A ligação de Ca^{2+} ao sítio S2 induz a formação do sítio de ligação a carboidrato. A energia de ativação do processo de conversão da forma inativa para a ativa é de 22 Kcal.mol⁻¹, com uma constante de tempo de 17 min a 5°C (BROWN *et al.*, 1977).

As determinações de seqüências primárias das lectinas de plantas têm sido feitas por técnicas convencionais de derivatização e seqüenciamento de proteínas, através da degradação de Edman e, nos últimos dez anos, pelo seqüenciamento dos genes correspondentes. A comparação das seqüências de aminoácidos permite agrupar as lectinas de plantas superiores em quatro famílias homólogas e distintas: a família das lectinas de leguminosas, a daquelas com especificidade por quitina, e as famílias das lectinas de *Amaryllidaceae* e de *Moraceae*, respectivamente.

A homologia entre diferentes lectinas obtidas de uma família de plantas simples, de legumes, sugere fortemente uma origem genética comum para estas proteínas. Por essa razão, as lectinas podem ser agrupadas em famílias que têm sua estrutura primária conservada. Além disso, a homologia sugere um ancestral comum para os genes codificadores dessas proteínas, que se torna mais evidente quando se comparam seqüências de lectinas de plantas de uma mesma família (CHRISPEELS e RAIKHEL, 1991).

As sementes de leguminosas constituem a maior e a mais estudada família de lectinas vegetais. Como resultado desses estudos, diversas proteínas desse grupo se encontram completamente seqüenciadas, podendo-se citar: *Canavalia ensiformis*

```

P.vulgaris Arc4 MASSKFFTVL----FLVLLSHANSATETSFNIDAFNKTNLILQGDATVTSKGYLRLTDDT
P.vulgaris Arc5 MASSN---LLSLALFLVL-THANSASQTFSSDFRFNETNLILQGDAPSSSSGQLRLTNLK
P.vulgaris AI4 MASS---NLLSLALFLVLLTHANSATETSFI IDAFNKTNLILQGDATVSSNGNLQLSHNS
P.vulgaris lec MASSN---LLSLALFLVLLTHANSASQTSFSFQRFNETNLILQGDATVSSSGQLRLTNVN
P.acutifolius AI MASSKFCVSLVSLVFLVLLTHANSACNTSFNHFSFNETNMLQGGQATVSSNGNLQLN--T
P.acutifoliuslec MASSNFSTVLSLALFLPLLTHANSANDISFNQRFNETNLILQGDASVSSSGQLRLTNLN
P.lunatus AI2 MASSKFCVLSLALFLVLLTHANSANDIFFNIDRFNETNLILQGDATVSSKGQLELTDDET
P.lunatus Arc MASSKFSTVLSLALFLVLLTHANSAELEFSFNQTFNAANLILQGNASVSSSGQLRLTEVK
P.maculatus AI MASSKFSTVLSLALFLVLLSHANSANDISFNITTFNETNLILQGDATVSSNGNLQLNDDK
      ****      :*      ** * :*****      * : ** :***:*** :. :.* **.*.

P.vulgaris Arc4 ED-----SMGRAFYSPVPIQIRDSTTGNVASFSTNFTFIMD---EANSTYGLAFALVPVG
P.vulgaris Arc5 SNGEPTVGSLLGRAFYSAPIQIWDNTTGTVASFATSFTFNQVPPNAGPADGLAFALVPVG
P.vulgaris AI4 YD-----SMRAFYSAPIQIRDSTTGNVASFDSNFTMNIRHTNTHQDASVSSSGQLRLTNLN
P.vulgaris lec DNGEPTLSSLLGRAFYSAPIQIWDNTTGAVAASPTSTFTFNIDVPNNSGFPADGLAFVLLPVG
P.acutifolius AI MD-----SMCSAFYSAPIQIRDSTTGNVASFDNFTINMTSYCKANSADVGLDFALVPV-
P.acutifoliuslec DNGEPTLSSLLGRAFYSTPIQIWDSTTGAVASFATSFTFNIRVPPNAGPADGLAFALVPVG
P.lunatus AI2 DF-----SMGRAFYSAPIQMRDST-GN-ASFDTNFTFNMRPSNKVTSYGLAFALVPVD
P.lunatus Arc SNGEPKVASLGRAFYSAPIQMRDST-GN-ASFDTNFTFNMRPSNKVTSYGLAFALVPVD
P.maculatus AI SD-----SMGRAFYSAPIQIRDSTTGNVASFDNFTINLPL---DVNSPYGLAFALVPVG
      :          * : ****.***: * * * * : :.***: : . . ** *.*.***

P.vulgaris Arc4 SEPKANGPFLGLFRKPGYDPEAHTVAVVFINH--WYPNANGRHLGIDVNSILPIES-KPW
P.vulgaris Arc5 SQPKHKGGLLGLFNNDKYDSNAHTLAVELDTCCNDRDWDPKPRHIGIDVNS IRSIKT-TPW
P.vulgaris AI4 -QPESKG-----DVTVEEDTF-----SNRIGIDVNN-NDIKS-VPW
P.vulgaris lec SQPKDKGGLLGLFNNYKYDSNAHTVAVEFDTLYNVHWDPKPRHIGIDVNS IKSIKT-TTW
P.acutifolius AI -QPKSKGRLGLFKTPDYDRNAGNVTFEEDTF-----RRRISIDGNH-NDIES-VPW
P.acutifoliuslec SKPKDRGGLLGLFDG--SDSRAHTVAVEFDTLYNRDWDPRERHIGIDVNS IKSIKT-TPW
P.lunatus AI2 SQPKRKGRLGLFNTPENDINAHTVAVVFDTF-----SNRIGIDVNSVQSIES-KSW
P.lunatus Arc SQPKRKGRLGLFNTPENDINAHTVAVVFDTF-----SNRIGIDVNSVQSIES-KSW
P.maculatus AI SQPKRKGFRVGLFDKVEYDPKARTVAVAFNLNY--LYPSPNGRDVVIVDVNSIHPYRSHQPR
      :*: .*          .:.* : .          : ** *          :.

P.vulgaris Arc4 YV---GQKHAVVQITYVSSKKVLTVSLLYPSTGTMYDLYAKKVELEEVEVDWVSVGFSA
P.vulgaris Arc5 DF---VNGENAEVLITYESSTKLLVASLVYPSQKTSFIV-SDTVDLKSVLEPWVSVGFSA
P.vulgaris AI4 DVHDY-DGQNAEVRITYNSSTKVFSVLSNPSTERATTS-LPQWRLEKEVYDWWVSVGFSA
P.vulgaris lec DF---VKGENAEVLITYDSSTKLLVASLVYPSLKTFSIV-SDTVDLKSVLEPWVIVGFTA
P.acutifolius AI DVDDY-DGQNAEVRITYNSSTKVLAASLLNLSTGKSNNV-SARMELEKKLDDWVSVGFIG
P.acutifoliuslec DF---GQGEDAEVLITYDSSTKLLVASLVYPSQKTSFIV-SDTVDLKSVLEPWVVRVGFSA
P.lunatus AI2 DFRHY-KGQKAEVRITYNSSSKVLAASLFYPSGKRYDV-SAKVELEEVLDDWVSVGFSA
P.lunatus Arc DFRHY-KGQKAEVRITYNSSSKVLAASLFYPSGKRYDV-SAKVELEEVLDDWVSVGFSA
P.maculatus AI RLRHVIPERQVNVIRITYNSSMTILAVHEFSPSTEQIYDV-STKVELEENVDWVSVGFSA
      .          ... * *** ** . : .          *          * :. : : ** * ** .

P.vulgaris Arc4 TSGANQWSYETHDVISWSFSSKFS--DDDTSER---SNILLNNIL
P.vulgaris Arc5 TTGINKGNVETNDVLSWSFASKVSD--GT-TSEGLNLAKLVLNKIL
P.vulgaris AI4 TSGAYQWSYETHDVISWSFSSKFINLKDQ-KSER---SNVVLNQIL
P.vulgaris lec TTGITKGNVETNDILSWSFASKLSD--GT-TSEALNLANFALNQIL
P.acutifolius AI TSGVHYYSFETRDVFSWSFSSKFSQ--HT-TSER---SNILNQIL
P.acutifoliuslec TSGITKGNVETNDLLSWSFASKLSD--GT-TSEGLNLANFVLNQIL
P.lunatus AI2 TSAYK---ETHDVISWSFSSSLSD--DT-TSEP---SNILLNKIL
P.lunatus Arc TSAYK---ETHDVISWSFSSSVSD--DT-TSEP---SNILLNKIL
P.maculatus AI TS---LNRETPDVLDSFSSSLSD--DT-TSER---SNIVLNQIL
      * :          ** * :.***:*. . :          .**          :. : : ** *

```

Figura 1 Alinhamento dos aminoácidos de nove cadeias protéicas de espécies do gênero Phaseolus. Estão dispostas as cadeias de: arcelinas 4 e 5, inibidor de amilase 4 e lectina PHA-L de *P. vulgaris*; inibidor de amilase e lectina de *P. acutifolius*; inibidor de amilase 2 e arcelina de *P. lunatus*; e inibidor de amilase de *P. maculatus*. Ao final de cada bloco estão representadas as respectivas posições de consenso de homologia (*), de similaridade (:), de divergência (.) e de introdução de espaços (-) entre os resíduos.

(CUNNINGHAM *et al.*, 1975), *Dioclea grandiflora* (AINOUZ *et al.*, 1987), *Baubinia purpurea* (KUSUI *et al.*, 1991).

Os grupos de lectinas exibem em geral alta homologia quando suas seqüências de aminoácidos são apropriadamente alinhadas entre plantas de mesma filogenia. A comparação das cadeias primárias de lectinas com especificidade por quitina, isoladas de sementes de gramíneas: trigo (WGA), cevada (BL) e arroz (RL) e dos rizomas de *Urtica dioica*, revelou uma grande homologia, apesar da distância filogenética entre elas (CHRISPEELS e RAIKHEL, 1991). Todas possuem em comum um domínio de 43 resíduos de aminoácidos, rico em glicina e cisteína que se liga à quitina. Também através do alinhamento das seqüências primárias de várias proteínas do gênero *Phaseolus* foi possível identificar as semelhanças e especificidades dos genes que compõem a grande família das lectinas (MIRKOV *et al.* 1994). Um exemplo desse alinhamento é mostrado na Figura 1, constando as seqüências de arcelinas, lectinas e inibidores de α -amilase (FINARDI FILHO *et al.* 1996). Estas duas últimas são derivadas das arcelinas, proteínas de reserva que foram perdidas durante o processo evolutivo do feijoeiro e que, em alguns exemplares de *P.vulgaris* selvagem, apresentam resistência ao ataque de insetos (OSBORN *et al.* 1988; FORY *et al.* 1996).

Do mesmo modo, aplicando-se a técnica de alinhamento entre as *Amaryllidaceae* evidencia-se a presença de uma família de lectinas de *Galanthus nivalis*, e de exemplares dos gêneros *Narcissum* e *Hippeastrum* com alto grau de homologia, tanto pela seqüência de nucleotídeos, a partir do cDNA, quanto pela seqüência de aminoácidos (VAN DAMME *et al.*, 1992). Mais um grupo estrutural distinto é formado pelas lectinas encontradas em

```

A. ascalonium ---STPSP-KL-MSVATVATILITILASTCMARNVLVNNEGLYAGQSLVEEQ
A. cepa -----TVATILITILASTCMARNVLVNNEGLYAGQSLVVEQ
A. ursinum ---MAISVNCKI-IMVCAVGTILSILTPTSMGRNILLNNGEGLYAGQSLEEGS
A. porrum MGRITTPSP-KLIMSTTTVAAILTILASTCMARNLLTNGEGLYAGQSLDVEQ
          :*.:**:**:.*.:**:* *.:*****
          .

A. ascalonium YTFIMQDDCNLVLYEYSTPIWASNTGITGKNGCRAVMQPDGNFVVYVVKGR
A. cepa YTFIMQDDCNLVLYEYSTPIWASNTGVTGKNGCRAVMQADGNFVVYDVKGR
A. ursinum YKLIQDDCNLVLYEYSTQVWASNTGVSGRNGCRAVMQADGNFVYVDSNSR
A. porrum YKFIMQDDCNLVLYEYSTPIWASNTGVTGKNGCRAVMQKDGNFVVYDVNGR
          *.:*****:**** :*****:*.***** *****: :.*

A. ascalonium AVWASNSRRGNGNYILVLQKDRNVVIYGSDIWSGTGYRKKVGGTVVMAMNG
A. cepa AVWASNSRRGNGNYILVLQKDRNVVIYGSDIWSGTGYRKKVGGTVVMAMNG
A. ursinum AVWASQRRGNGNYILALQEDRNVVIYGTDIWSGTGYRKGVGGTVVTVING
A. porrum PVWATNSVRGNGNYILVLQDRNVVIYGSDIWSGTGYRRSAGGPVVMAMNG
          .***:.* *****.*:*****:*****: .**.* .:**

A. ascalonium TVDGGS AIGPVTVNQNVTA VRKVAAAAA
A. cepa TVDGGSVVGPVTVNQNVTA VRKVAAAA--
A. ursinum TVDAGSGMENVT-----ATAA--
A. porrum TVNGGSVVGPVIVNQNVT AIRKVGTSAA-
          **:.* : * .:.*
    
```

Figura 2 Alinhamento dos aminoácidos das cadeias protéicas de quatro espécies do gênero *Allium* com suas respectivas posições de consenso de homologia (*), de similaridade (:), de divergência (.) e de introdução de espaços (-) entre os resíduos.

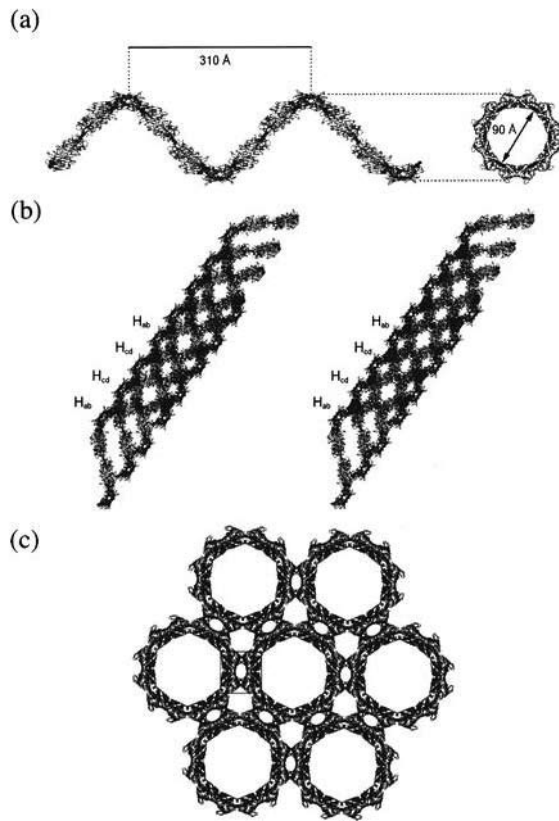


Figura 3 Modelo de estrutura cristalina de lectina que interage com receptores Flt3. a) Hélice simples formada por ligações cruzadas de dímeros canônicos de FRIL; b) Estéreo imagem de quatro super-hélices justapostas; c) Visão do pacote cristalino das super-hélices. Adaptado de HAMELRYCK et al., 2000.

bulbos da família *Allium*, que se caracterizam pelo baixo peso molecular e alta homologia. Entre elas destacam-se as lectinas de cebola (*Allium cepa*), cebola selvagem (*A. ascalonicum*), alho (*A. sativum*), alho porró (*A. porrum*) e *A. ursinum* (Figura 2). Este resultado, obtido através de busca em bancos de dados (www.ncbi.nlm.nih.gov). ALTSCHUL *et al.*, (1997) associado a programas de alinhamento de seqüências (www.ch.embnet.org), evidencia neste último caso a similaridade das cadeias protéicas com até 76% de homologia.

Embora a maioria das lectinas de plantas mais bem caracterizadas tenha sido isolada de sementes da família *Leguminosae*, várias lectinas com propriedades biológicas interessantes tem sido recentemente obtidas da família *Moraceae*, incluindo a lectina KM⁺ de sementes de jaca – *Artocarpus integrifolia* (ROSA *et al.*, 1999).

As lectinas de sementes de *Moraceae* (*Artocarpus integrifolia* e *Maclura pomifera*) possuem uma alta homologia entre si, porém nenhuma similaridade foi detectada com

as demais lectinas de vegetais seqüenciados, o que revela a existência de uma família distinta de lectinas homólogas (YOUNG et al., 1989). Por exemplo, a jacalina isolada de *Artocarpus integrifolia* consiste de duas cadeias polipeptídicas, com uma subunidade α , de 133 resíduos, e uma subunidade β , de 20 resíduos. A análise das seqüências revelou que ambas subunidades apresentam variações em suas cadeias, indicando, assim, a existência de múltiplas isoformas da jacalina (YOUNG et al., 1989, 1991). Os cDNAs das isolectinas da jaca foram isolados, caracterizados e clonados. Estuda-se, também, seu potencial como veículo de fármacos (YANG e CZAPLA, 1993). Deve-se incluir ainda nesse grupo a frutalina, encontrada em sementes de fruta-pão, *Artocarpus incisa*, que apresenta a partir de resultados preliminares, uma estrutura similar à da jacalina (BRANCO, 1997; MOREIRA et al, 1998).

Recentes estudos têm usado propriedades físicas para caracterizar as interações de lectinas com carboidratos. A cristalização de glicoconjugados com lectinas leva a formação de estruturas diversas que dependem das valências de ligação aos carboidratos. Desse modo, a análise de cristalografia de R-X mostra lectinas divalentes formando estruturas lineares junto com glicoconjugados divalentes, enquanto formas bi ou tri-dimensionais são próprias de componentes com mais de duas valências, tanto da lectina quanto do carboidrato (HAMELRYCK *et al.*, 2000). Os autores, que estudaram as lectinas isoladas de *Dolichos lablab* que interagem com receptores Flt3, conhecida pela sigla FRIL, propõem estruturas cristalinas tubulares formadas por hélices compostas, que se associam em conjuntos simétricos (Figura 3). Estudos termodinâmicos das interações multivalentes lectina-carboidrato têm confirmado as estruturas em redes de formação quadrática e hexagonal que estariam funcionalmente vinculadas aos receptores biológicos na transdução de sinal (SACCHETTINI et al., 2001).

ASPECTOS TOXICOLÓGICOS E ANTINUTRICIONAIS

As lectinas estão presentes em várias espécies vegetais comestíveis sendo uma decorrência inevitável a exposição do homem e animais a estas proteínas. Entre os alimentos de origem vegetal *in natura* e processados, cerca de 30% contêm lectinas ativas (NACHBAR e OPPENHEIM, 1980).

O primeiro grupo de lectinas que evidentemente tem um papel de defesa são as proteínas citotóxicas como a ricina e a abrina. Plantas que acumulam este tipo de proteínas são potencialmente tóxicas para a maioria dos organismos e, por essa razão, tornam-se protetoras ao ataque de eucariontes. Há, no entanto a possibilidade, de que alguns fungos ou insetos sejam capazes de inativar estas lectinas tóxicas por proteólise bem antes de elas causarem qualquer dano significativo (PEUMANS e VAN DAMME, 1995).

Tem sido mostrado que certas lectinas são altamente resistentes à hidrólise enzimática no trato gastrointestinal. BRADY *et al.* (1978) mostraram que a WGA pode ser recuperada intacta e biologicamente ativa em amostras fecais de indivíduos que haviam sido alimentados com dietas contendo germe de trigo. Em ratos alimentados com dietas

contendo lectina pura de *Phaseolus vulgaris* (PHA) foi recuperado, nas fezes, um teor de 90% das frações ingeridas, ainda na forma ativa (PUSZTAI *et al.*, 1986).

Dependendo da lectina presente em cada alimento ingerido, a intensidade do processo tóxico pode variar entre estados de completa ausência sintomatológica até a morte por ingestão de diminutas quantidades. Neste caso se encontram as RIPs, que são conhecidas como potentes agentes citotóxicos. Há relatos de efeito mortal das RIPs tipo II sobre animais superiores, incluindo humanos (PEUMANS e VAN DAMME, 1995).

O fato de sementes de leguminosas serem consumidas por uma parcela considerável da população mundial, faz aumentar a preocupação de pesquisadores sobre o real significado das lectinas nas dietas, pois feijões crus (*Phaseolus vulgaris*) presentes em rações de ratos debilitam o desenvolvimento desses animais. Está claro que as lectinas de feijões, após a interação com receptores na superfície de células intestinais, são endocitadas, causando distúrbios sistêmicos. Há perda das microvilosidades intestinais de ratos alimentados com lectinas de feijão, diminuindo o ritmo de crescimento dos animais (ROSSI *et al.*, 1984). Hiperplasias de intestinos, de fígado e de pâncreas também foram observadas quando a lectina pura foi administrada a ratos. Aparentemente a hiperplasia pancreática pode ser a responsável pela diminuição dos níveis de insulina dos ratos alimentados com lectina de feijão (PUSZTAI *et al.*, 1986).

Adicionalmente, a lectina de *P. vulgaris* administrada aos ratos por via oral ocasionou certa atrofia do timo, que poderia ser causada pela proliferação bacteriana no intestino, com suspeita de dano no sistema imunológico (JAYNE-WILLIAMS e HEWITT, 1972). A ingestão de lectina de *P. vulgaris* também afeta o metabolismo de nutrientes, com um aumento na excreção de nitrogênio e no catabolismo lipídico (PUSZTAI *et al.*, 1986), conduzindo a uma debilidade geral, com perda de peso, desenvolvimento inadequado e eventual morte. Administradas parenteralmente podem diminuir a resistência a infecções (DICKINSON *et al.*, 1978), ou provocar tumores (SCHWARTZ e PAPPAS, 1976). Há ainda relatos de que, sob certas circunstâncias, as lectinas podem ser altamente alergênicas (MITCHELL e CLARKE, 1979).

Recentemente, resultados de ensaios nutricionais executados com lectinas de *Galanthus nivalis*, GNA, incorporadas em batatas causaram grande repercussão e polêmica (EWEN e PUSZTAI, 1999). Rações administradas a ratos tiveram adição da lectina em sua forma purificada e batatas geneticamente modificadas, GM, para expressar a GNA. Os autores afirmaram que as batatas GM foram responsáveis pelo retardo no desenvolvimento dos animais, com danos ao sistema nervoso. Porém, após uma auditoria interna, ficaram comprovadas falhas no delineamento experimental, de tal modo que os resultados não tiveram credibilidade. De qualquer forma, o fato relevante que ficou do ensaio foi a alta toxicidade da GNA, inadequada para ser empregada em plantas GM como barreira biológica contra pragas.

Mesmo entre as leguminosas, os dados da literatura apresentam posições divergentes dependendo das espécies ensaiadas. FIGUEROA *et al.* (1984), trabalhando com lectinas isoladas de *P. vulgaris*, constataram que a adição de 1% de lectina do feijão

Jalo provoca diminuição no crescimento, altera a glicemia sérica e também reduz a atividade da maltase e da invertase na mucosa intestinal de ratos. Em contraste, porém, as sementes de feijão veludo (*Mucuna pruriens*) não apresentam atividade aglutinante para nenhum tipo sanguíneo de humanos, de coelhos e de porcos, e mesmo a alta atividade de inibição de tripsina é drasticamente reduzida pelos procedimentos usuais de remolho e cocção (UDEDIBIE e CARLINI, 1998). Ainda entre as leguminosas, ensaios nutricionais com ratos alimentados com dietas contendo lentilhas (*Lens culinaris*) revelaram que as preparações contendo a lentilha integral, a fração globulínica e a casca das sementes reduziram a curva de crescimento dos animais, evidenciando a baixa digestibilidade proteica. Paralelamente no mesmo trabalho, os grupos de ratos que receberam lectina pura e fração albumina isenta de lectina na dieta não sofreram qualquer alteração significativa no desenvolvimento (CUADRADO *et al.*, 2002).

APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DAS LECTINAS

Devido às características e propriedades bioquímicas, as lectinas vêm sendo utilizadas como valiosos instrumentos em pesquisas médicas e biológicas (Quadro 2).

As lectinas podem ser utilizadas para explorar superfícies celulares ligando-se à porção carboidrato de glicoproteínas ou de glicolipídios que se projetam da célula (SARKAR *et al.*, 1991). Pela sua versatilidade, as lectinas têm sido usadas, muito além da tipagem de células vermelhas do sangue, nos estudos de receptores químicos, estrutura presente nas hemáceas dos grupos sanguíneos (SAKAKIBARA *et al.*, 1985). Assim, estudos de inibição por açúcares simples com as lectinas de *Phaseolus limensis* e *Vicia craca*, específica para o grupo A, de *Lotus tetragonolobus* e *Anguilla anguilla*, específicos para o grupo O, forneceram evidências, de que N-acetilgalactosamina e L-fucose desempenham um papel importante na especificidade dos grupos A e O, respectivamente, e como agentes mitogênicos na lectina de *Phaseolus vulgaris*, PHA (SHARON e LIS, 1987). Outras três lectinas foram reconhecidas para o mesmo fim: o mitógeno de erva-dos-cancros, uma lectina de *Wistaria floribunda*, e a Con A (DOYLE *et al.*, 1975).

As lectinas mitogênicas também podem ser utilizadas para cariotipagem, determinação de sexo e detecção de cromossomos defeituosos devido à fácil visualização dos cromossomos nas células estimuladas (SHARON e LIS, 1989).

Lectinas de diferentes especificidades foram imobilizadas sobre suportes inertes e usadas como matrizes de afinidade para fins bastante variados. Assim, elas têm sido utilizadas em cromatografias de afinidade não só para o isolamento, como para a demonstração da natureza glicoprotéica de receptores de hormônios, fatores de crescimento, neurotransmissores, imunoglobulinas e compostos relacionados (GIOANNINI *et al.*, 1982). Do mesmo modo, a cromatografia de afinidade em colunas com lectina imobilizada tem sido utilizada não apenas com propósitos preparativos, de isolamento de glicoproteínas de membrana, como analítico para separar glicopeptídeos que diferem pouco na composição e estrutura de carboidratos.

Quadro 2 Emprego de lectinas em atividades de pesquisa e em diagnóstico*

1 - Caracterização de carboidratos e de glicoconjugados.
2 - Estruturas de carboidratos complexos na superfície de células e de partículas subcelulares de animais, bactérias e vírus.
3 - Arquitetura de superfícies celulares e suas mudanças sob transformação maligna.
4 - Tipagem sanguínea, estudos estruturais de substâncias de grupos e subgrupos sanguíneos.
5 - Isolamento de subpopulações de linfócitos.
6 - Genética, biossíntese e função de glicoconjugados de superfícies celulares.
7 - Estimulação mitogênica de linfócitos, eventos após a iniciação da divisão celular, constituição cromossomal de células e detecção de anormalidades cromossômicas.
8 - Sítios de ligação específica carboidratos-proteínas.
9 - Análises estruturais dos modelos de interação proteína-proteína.
10 - Estimulação linfocitária e de citotoxicidade celular dependente de lectinas.
11 - Tipagem de microrganismos e parasitas (<i>T. cruzi</i> e <i>Leishmania</i>).
12 - Modelos moleculares de transdução de sinal.
13 - Fatores de resistência em vegetais heterólogos.

* Adaptado de: MOREIRA *et al.* 1991; LORIS *et al.* 1998; DAM e BREWER, 2002.

Diversas lectinas, entre elas a Con A, a lectina de lentilha, a BSI de *Bandeiraea simplicifolia* I, as RCA I e II de *Ricinus communis*, a aglutinina de germe de trigo, e a jacalina, foram imobilizadas em suportes inertes e assim usadas como matrizes para purificar glicoproteínas (GIOANNINI *et al.*, 1982; SARKAR *et al.*, 1991).

Entre as aplicações analíticas de lectinas pode-se citar a reação imunoabsorvente com enzima, ELISA, que foi desenvolvida para detecção quantitativa de glicoproteínas dos envelopes do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e da imunodeficiência de símios (SIV) utilizando a lectina de *Galanthus nivalis* (MAHMOOD e HAY, 1992).

Lectinas com especificidades distintas têm sido conjugadas com isotiocianato de fluoresceína (FITC), com a finalidade de: analisar a superfície de bactérias fixadoras de nitrogênio, avaliar a distribuição de receptores para lectinas em embriões de camundongos transplantados (KIMBER, 1989) e estudar glicoproteínas de superfícies celulares de espermatozoides de caprinos (SARKAR *et al.*, 1991).

Diversas lectinas são capazes de diferenciar algumas espécies de microrganismos. Lectina de germe de trigo (WGA) aglutina a espécie *Neisseria gonorrhoeae* (SCHAEFER *et al.*, 1979), lectinas de *Glycine max*, *Abrus precatorius* e *Griffonia simplicifolia*, aglutinam apenas *Bacillus anthracis* e *Bacillus mycoidis* (COLE *et al.*, 1984) entre vários bacilos. O uso de lectinas em microbiologia clínica apresenta várias vantagens como, estabilidade,

atividade específica elevada, disponibilidade comercial de várias lectinas e habilidades em mostrar diferenças estruturais entre espécies (SLIFKIN e DOYLE, 1990).

O emprego da tecnologia do DNA recombinante tem demonstrado extrema utilidade em estudos de estrutura, biossíntese e função de lectinas de plantas (HAMELRYCK et al., 2000). Além desses, as técnicas de biologia molecular têm permitido a transformação genética de plantas para aumentar a resistência ao ataque de insetos predadores (SHADE *et al.* 1994) e a diminuição de fatores adversos pela presença de lectinas em vegetais comestíveis. Por exemplo, a inclusão de uma proteína inibidora de α -amilase, da mesma família das lectinas de feijão comum, em ervilhas proporcionou resistência da planta ao ataque de carunchos (SHADE *et al.* 1994). As mesmas ervilhas foram empregadas em ensaio nutricional de ratos sem causar danos ao desenvolvimento e tampouco alterar os parâmetros bioquímicos e clínicos de controle de saúde dos animais (PUSZTAI *et al.*, 1999).

CONCLUSÕES

Além do entendimento atual dos mecanismos clássicos que regem as interações lectina-carboidrato estão em curso novas revelações sobre o papel das lectinas nas células e tecidos. Essas deverão trazer esclarecimentos sobre o metabolismo e a fisiologia de todos os seres vivos com indiscutíveis avanços para o transporte de substâncias bioativas para o interior das células, o desenvolvimento de modernas técnicas de diagnóstico, a transformação genética de organismos e a identificação e a eliminação de fatores adversos de plantas.

Abrem-se, portanto, alternativas de desenvolvimento de novas variedades de plantas mais resistentes, mais bem adaptadas ao meio e que, ao mesmo tempo, se tornam mais úteis para diversas finalidades e empregos nas áreas de saúde, sobretudo para serem consumidas diretamente como alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCE

- AINOUZ, I.L.; MOREIRA, R.A.; CAMPOS, F.A.P.; RICHARDSON, M. BEGBIE, R.; STEWART, J.C.; WATT, W.B.; PUSZTAI, A. The isolation and amino acid sequence of the beta and gamma subunits of the lectin from the seeds of *Dioclea grandiflora*. *Phytochem.*, v.26, p.1435-1440, 1987.
- ALTSCHUL, S.F.; MADDEN, T L.; SCHÄFFER, A.A.; ZHANG, J.; ZANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D.J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.*, v.25, p. 3389-3402, 1997.
- BOHLOOL, B.B.; SCHMIDT, E.L. Lectins: a possible basis for specificity in the *Rhizobium* – legume root nodule symbiosis. *Science*, v.185, p.269 – 271, 1974.
- BOLINI, R.; CHRISPPEELS, M.J. Characterization and subcellular localization of vicilin and phytohemagglutinin, the two major reserve proteins of *Phaseolus vulgaris* L. *Planta*, v.142, p.292-298, 1978.
- BRADY, P.G.; VANNIER, A.M.; BANWELL, J.G. Identification of the dietary lectin, wheat germ agglutinin, in human intestinal contents. *Gastroenterol.*, v.75, p.236-239, 1978.

- BRANCO, C.C.C. Sementes de fruta-pão (*Artocarpus incisa L.*), estudos bromatológicos e isolamento e caracterização de uma lectina. São Paulo, 1997. 121p. Tese. Doutorado em Ciência de Alimentos Faculdade de Ciências Farmacêuticas/ Universidade de São Paulo.
- BROWN, R.D.; BREWER, C.F.; KOENIG, S.H. Conformation states of concanavalin A: kinetics of transitions induced by interaction with Mn^{2+} and Ca^{2+} ions. *Biochemistry*, v.16, n.17, p.3883-3896, 1977.
- CHRISPEELS, M.J.; HARTL, P.M.; FAYE, L. Characterization of the endoplasmic reticulum-associated precursor of Concanavalin A. *J. Biol. Chem.*, v.261, n.22, p.10021-24, 1986.
- CHRISPEELS, M.J.; RAIKHEL, N.V. Lectins, lectin genes, and their role in plant defense. *Plant Cell*, v.3, p.1-9, 1991.
- COLE, H.B.; EZZELL, J.W.; KELLER, K.F.; DOYLE, R.J. Differentiation of *Bacillus anthracis* and other *Bacillus* species by lectin. *J. Microbiol.*, v.19, n.1, p.48-53, 1984.
- CORREIA, M.T.S.; COELHO, L.C.B.B. Purification of a glucose manose specific lectin, isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart (Camaratu bean). *Appl. Biochem. Biotechnol.*, v.55, n.3, p.261-273, 1995.
- CUADRADO, C.; GRANT, G.; RUBIO, L.A.; MUZQUIZ, M.; BARDOCZ, S.; PUSZTAI, A. Nutritional utilization by the rat of diets based on lentil (*Lens culinaris*) seed meal or its fractions. *J. Agric. Food Chem.*, v.50, p.4371-4376, 2002.
- CUNNINGHAM, B.A.; WANG, J.L.; WAXDAL, M.J.; EDELMAN, G.M. The covalent and three-dimensional structure of concanavalin A II. Amino acid sequence of cyanogen bromide fragment F2. *J. Biol. Chem.*, v. 250, n.4, p.1503-1512, 1975.
- DAM, T.K.; BREWER, C.F. Thermodynamics studies of lectin-carbohydrate interactions by isothermal titration calorimetry. *Chem. Rev.*, v. 102, p. 387-429, 2002.
- DATTA, P.K.; FIGUEROA, M.O.D.C.R.; LAJOLO, F.M. Purification and characterization of two major lectins from *Araucaria brasiliensis* syn. *Araucaria angustifolia* seeds (pinhão). *Plant. Physiol.*, v.97, p.856-62, 1991.
- DIAZ, C.L.; MELCHERS, L.S.; HOOYKAAS, P.J.J.; LUGTENBERG, B.J.J.; KIJNE, J. W. Root lectin as a determinant of host-plant specificity in *Rhizobium*-legume symbioses. *Nature*, v.338, p.579-581, 1989.
- DICKINSON, A.G.; FRASER, H.; McCONNELL, I.; OUTRAM, G.W. Mitogenic stimulation of the host enhances susceptibility to scrapie. *Nature*, v.272, p.54-55, 1978.
- DOYLE, R.J.; THOMASSON, D.L.; GRAY, R.F.; GLEW, R. H. Spectral changes accompanying the interaction between metal ligand and concanavalin A. *FEBS Letters*, v.52, p.185-187, 1975.
- EWEN, S.W.; PUSZTAI, A. Effect of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine. *Lancet*, v.354, p.1353-1354, 1999.
- FINARDI FILHO, F.; MIRKOV, T.E.; CHRISPEELS, M.J. A putative precursor protein in the evolution of the bean α -amylase inhibitor. *Phytochem.*, v.43, p.57-62, 1996.
- FIGUEROA, M.O.R.; MANCINI, F.J.; LAJOLO, F.M. Ação antinutricional das fitohemaglutininas de *Phaseolus vulgaris*, L. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, v. 34, n.3, p.488-89, 1984.
- FORY, L.F.; FINARDI-FILHO, F.; QUINTERO, C.M.; OSBORN, T.C.; CARDONA, C.; CHRISPEELS, M.J.; MAYER, J.E. -amylase inhibitors in resistance of common beans to the Mexican bean weevil and the bean weevil. *J. Econ. Entomol.*, v.89, p.204-10, 1996.
- FRANKEL, A.E.; BURBAGE, C.; FU, T.; TAGGE, E.; CHANDLER, J.; WILLINGHAM, M.C. Ricin toxin contains at least three galactose binding sites located in B chain subdomains 1 α , 1 β , and 2 γ . *Biochemistry*, v.36, p.14749-14756, 1996.

- GIBSON, D.M.; STACK, S.; KREL, K.; HOUSE, J. A comparison of soybean agglutinin in cultivars resistant and susceptible to *Phytophthora megasperma* var. sojae (race 1). *Plant Physiol.* v.70, p.560-565, 1982.
- GIOANNINI, T.; FOUCAUD, B.; HILLER, J.M.; HATTEN, M.E.; SIMON, E.J. Lectin binding of solubilized opiate receptors evidence for their glycoprotein nature. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v.105, p.1128-1134, 1982.
- GOLDSTEIN, I.J.; HUGHES, R.C.; MONSIGNY, M.; OZAWA, T.; SHARON, N. What should be called a lectin? *Nature*, v.285, p.66, 1980.
- HAMELRYCK, T.W.; MOORE, J.G.; CHRISP-EELS, M.J.; LORIS, R.; WYNS, L. The role of weak protein-protein interactions in multivalent lectin-carbohydrate binding: crystal structure of cross-linked FRIL. *J. Mol. Biol.*, v.299, p.875-883, 2000.
- HARDMAN, K.D.; AINSWORTH, C.F. Structure of the Concanavalin A at 2.4 Å resolution. *Biochemistry*, v.11, n.26, p.4910-4919, 1972.
- JAYNE-WILLIAMS, D.J.; HEWITT, D. The relationship between the intestinal microflora and the effects of diets containing raw navy beans (*Phaseolus vulgaris*) on the growth of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *J. Appl. Bacteriol.*, v.35, p.331-345, 1972.
- KIMBER, S.J. Changes in cell-surface glycoconjugates during embryonic development demonstrated using lectins and other probes. *Biochem. Soc. Trans.*, v.17, p.23-7, 1989.
- KJEMTRUP, S.; BORKHSENIUS, O.; RAIKHEL, N.V.; CHRISP-EELS, M.J. Targeting and release of phytohemagglutinin from the roots of bean seedlings. *Plant Physiol.*, v.109, p.603-610, 1995.
- KNOX, R.B.; CLARKE, A.; HARRISON, S.; SMITH, P.; MARCHALONIS, J.J. Cell recognition in plant: determinants on the stigma surface and their pollen interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.73, p.2788, 1976.
- KUSUI, K.; YAMAMOTO, K.; KONAMI, Y.; OSAWA, T. cDNA cloning and expression of *Baubinia purpurea* lectin. *J. Biochem.*, v.109, p.899-903, 1991.
- LERNER, D.R.; RAIKHEL, N.V. The gene for stinging nettle lectin (*Urtica dioica* agglutinin) encodes both a lectin and a chitinase. *J. Biol. Chem.*, v.267, n.16, p.11085-11091, 1992.
- LORIS, L.; HAMELRYCK, T.; BOUCKAERT, J.; WYNS, L. Legume lectin structure. *Biochim. Biophys. Acta*, v.1383, p.9-36, 1998.
- MAHMOOD, N.; HAY, A.J. An ELISA utilizing immobilized snowdrop lectin GNA for the detection of envelope glycoproteins of HIV and SIV. *J. Immunol. Methods*, v.151, p.9-13, 1992.
- MIRELMAN, D.; GALUN, E.; SHARON, N.; LOTAN, R. Inhibition of fungal growth by wheat germ agglutinin. *Nature*, v.256, p.414-16, 1975.
- MIRKOV, T.E.; WAHLSTROM, J.M.; HAGIWARA, K.; FINARDI FILHO, F.; KJEMTRUP, S.; CHRISP-EELS, M.J. Evolutionary relationships among proteins in the phytohemagglutinin-arcelin-amylase inhibitor family of the common bean and its relatives. *Plant Mol. Biol.*, v.23, p.1103-1113, 1994.
- MISHKIND, M.; RAIKHEL, N.V.; PALEVITZ, B.A.; KEEGSTRA, K. Immunocytochemical localization of wheat germ agglutinin in wheat. *J. Cell. Biol.*, v.92, p.753-764, 1982.
- MITCHELL, G.F.; CLARKE, A.E. Allergenicity of concanavalin a in mice. *Int. Arch. All. Appl. Immunol.*, v. 58, p.391, 1979.
- MOREIRA, R.A.; BARROS, A.C.H.; OLIVEIRA, J.T.A.; RICHARDSON, M. Comparative studies of lectins from seeds of the tube *Diocleae*. *Arq. Biol. Tecnol.*; v.28, p.173, 1985.
- MOREIRA, R.A.; CASTELO-BRANCO, C.C.; MONTEIRO, A.C.O.; TAVARES, R.O.; BELTRAMINI, L.M. Isolation and partial characterization of a lectin from *Artocarpus incisa* L. Seeds. *Phytochem.*, v.47, n.7, p.1183-1188, 1998.

- MOREIRA, R.A.; CAVADA, B.S.; OLIVEIRA, J.T.A.; AINOUS, I.L. Plant Lectins. In BRAZILIAN CONGRESS ON PROTEINS, 1st, *Proceedings*. Campinas, UNICAMP, 1991, p. 77-96.
- NACHBAR, M.S.; OPPENHEIM, J.D. Lectins in United States diet: A survey of lectins in commonly consumed foods and a review of literature. *Amer. J. Clin. Nutr.*, v.33, p.2338-2345, 1980.
- NICOLSON, G.L.; BLAUSTEIN, J.; ETZLER, M.E. Characterization of two plant lectins from *Ricinus communis* and their quantitative interaction with a murine lymphoma. *Biochemistry*, v.13, p.196-204, 1974.
- OLIVEIRA, J.T.A.; CAVADA, B.S.; MOREIRA, R.A. Isolation and partial characterization of a lectin from *Cratylia floribunda* Mart. *Seeds. Rev. Bras. Bot.*, v.14, p.61-66, 1991.
- OSBORN, T.C.; ALEXANDER, D.C.; SUN, S.S.M.; CARDONA, C.; BLISS, F.A. Insecticidal activity and lectin homology of arcelin seed protein. *Science*, v.240, p. 207-210, 1988.
- PAIVA, P.M.G.; COELHO, L.C.B.B. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart. (camaratu bean). *Appl. Biochem. Biotech.*, v.36, p.113-8, 1992.
- PARIJS, J.V.; BROEKART, W.F., GOLDSTEIN, I.J., PEUMANS, W.J. Hevein: an antifungal protein from rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) latex. *Planta*, v.183, p.258-264, 1991.
- PEUMANS, W.J.; NSIMBA-LUBAKI, M.; PEETERS, B.; BROEKAERT, W.F. Isolation and partial characterization of a lectin from ground elder (*Aegopodium podagraria*) rhizomes. *Planta*, v.164, p.75-82, 1985.
- PEUMANS, W.J.; VAN DAMME, E.J.M. Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiol.*, v.109, p.347-352, 1995.
- PUSZTAI, A.; GRANT, G.; BARDOZ, S.; ALONSO, R.; CHISPEELS, M.J.; SCHROEDER, H.E.; TABE, L.M., HIGGINS, T.J.V. Expression of the insecticidal bean α -amylase inhibitor transgene has minimal detrimental effect on the nutritional value of peas fed to rats at 30% of the diet. *J. Nutrition*, v.129, p.1597-1603, 1999.
- PUSZTAI, A.; GRANT, G.; DE OLIVEIRA, J.T.A. Local (gut) and systemic responses to dietary lectins. *IRCS Med. Sci.*, v.14, p.205, 1986.
- RAY, S.; AHMED, H.; BASU, S.; CHATTERJEE, B.P. Purification, characterization, and carbohydrate specificity of the lectin of *Ficus cunia*. *Carbohydr. Res.*, v.242, p.247-63, 1992.
- ROSA, J.C.; DE OLIVEIRA, P.S.L.; GARRATT, R.; BELTRAMINI, L.; RESING, K.; ROQUEBARREIRA, M.C.; GREENE, L.J. KM+, a mannose-binding lectin from *Artocarpus integrifolia*: Amino acid sequence, predicted tertiary structure, carbohydrate recognition, and analysis of the -prism fold. *Protein Sci.*, v.8, p.13-24, 1999.
- ROSSI, M.A.; MANCINI FILHO, J.; LAJOLO, F.M. Jejunal ultrastructural-changes induced by kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) lectins in rats. *Brit. J. Exper. Pathology*, v. 65, p. 117-123, 1984.
- SACCHETTINI, J.C.; BAUM, L.G.; BREWER, F. Multivalent protein-carbohydrate interactions. A new paradigm for supermolecular assembly and signal transduction. *Biochemistry*, v.40, p.3009-3015, 2001.
- SAKAKIBARA, F.; KAWAUCHI, H.; TAKAYANAGI, G. Blood group B-specific lectin of *Plecoglossus altivelis* (ayu fish) eggs. *Biochim. Biophys. Acta.*, v.841, n.1, p.103-111, 1985.
- SARKAR, M.; MAJUMDER, G.C.; CHATTERJEE, T. Goat sperm membrane: lectin-binding sites of sperm surface and lectin affinity chromatography of the mature sperm membrane antigens. *Biochim. Biophys. Acta*, v.1070, p.198-204, 1991.

- SCHAEFER, R.L.; KELLER, K.F.; DOYLE, R.J. Lectins in diagnostic microbiology: use of wheat germ agglutination for laboratory identification of *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Clin. Microbiol.*, v.10, p.669-672, 1979.
- SCHWARTZ, G.; PAPPAS, A. Tumor-enhancing and tumor-inhibiting in vivo effects of phytohemagglutinin: Study on proliferation of transplantable mouse melanoma. *European J. Cancer*, v. 12, p.599, 1976.
- SHADE, R.E.; SCHOEDER, H.E.; PUEYO, J.J.; TABE, L.M.; MURDOCK, L.L.; HIGGINS, T.J.V.; CHRISPPEELS, M.J. Transgenic pea seeds expression the α -amylase inhibitor of the common bean are resistant to bruchid beetles. *Bio/Technology*, v.12, p.793-796, 1994.
- SHARON, N.; LIS, H. A century of lectin research (1888-1988). *TIBS*, v.12, p.488-491, 1987.
- SHARON, N.; LIS, H. Lectins as cell recognition molecules. *Science*, v.246, p.227-234, 1989.
- SHARON, N.; LIS, H. Legume lectins – a large family of homologous proteins. *FASEB Journal*, v.4, p.3198-3207, 1990.
- SIKDAR, S.; AHMED, H.; CHATTERJEE, B.P. A pH dependent low-molecular weight blood group A specific lectin from *Crotalaria striata* seeds: purification and carbohydrate specificity. *Biochem. Arch.*, v.6, p.207-215, 1990.
- SLIFKIN, M.; DOYLE, R.J. Lectins and their application to clinical microbiology. *Clin. Microbiol. Rev.*, v.3, n.3, p.197-218, 1990.
- UDEDIBIE, A.B.I.; CARLINI, C. Brazilian *Mucuna pruriens* seeds (velvet bean) lack hemagglutinating activity. *J. Agric. Food Chem.*, v.46, p.1450-1452, 1998.
- VAN DAMME, E.J.M.; ALLEN, A.K.; PEUMANS, W.J. Isolation and characterization of a lectin with exclusive specificity towards mannose from snowdrop (*Galanthus nivalis*) bulbs. *FEBS. Letters*, v.215, n.1, p.140-144, 1987.
- VAN DAMME, E.J.M.; GOLDSTEIN, I.J.; VERCAMMEN, G.; VUYLSTEKE, J.; PEUMANS, W.J. Lectins of members of the *Amaryllidaceae* are encoded by multigene families which show extensive homology. *Physiol. Plantarum*, v.86, p.245-252, 1992.
- VAN PARIJS, J.; BROEKAERT, W.F.; GOLDSTEIN, I.J.; PEUMANS, W.J. Hevein: an antifungal protein from rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) latex. *Planta*, v.183, p.258-262, 1991.
- VOZARI-HAMPE, M.M.; VIEGAS, C.; SAUCEDO, C.; ROSSETO, S.; MANICA, G.G.; HAMPE, O.G. A lectin from *Secchium edule* fruit exudate. *Phytochem.*, v.31, n.5, p.1477-1480, 1992.
- WANG, H.; NG, T.B. Ribosome inactivating protein and lectin from Bitter Melon (*Momordica charantia*) seeds: sequence comparison with related proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v.253, p.143-146, 1998.
- WANG, J.L.; CUNNINGHAM, B.A.; EDELMAN, G.M.. Unusual fragments in the subunit structure of Concanavalin A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.68, p.1130-1134, 1971.
- YANG, H.; CZAPLA, T.H. Isolation and characterization of cDNA clones encoding jacalin isolectins. *J. Biol. Chem.*, v. 268, n.8, p.5905-5910, 1993.
- YOUNG, N.M.; JOHNSTON, R.A.Z.; SZABO, A. G.; WHATSON, D.C. Homology of the D-galactose specific lectins from *Artocarpus integrifolia* and *Maclura pomifera* and the role of an unusual small polypeptide subunit. *Arch. Biochem. Biophys.*, v.270, n.2, p.596-603, 1989.
- YOUNG, N.M.; JOHNSTON, R.A.Z.; SZABO, A.G.; WHATSON, D.C.. The amino acid sequences of jacalin and the *Maclura pomifera* agglutinin. *FEBS Letters*, v.282, p.382-84, 1991.

Recebido para publicação em 07/10/02. Aprovado em 06/12/02.