



EXTRACTION OF LECTIN FROM NATURAL RAW MATERIALS AND STUDY OF ITS PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES

**Rashidova Nodira Qobiljon qizi
Tashmuhammedova Shohista Sobirovna**

Tashkent Pharmaceutical Institute
e-mail: rashidovan93@mail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.15076597>

ARTICLE INFO

Received: 16th December 2024

Accepted: 22th December 2024

Online: 23th December 2024

KEYWORDS

Lectin, *Phaseolus vulgaris*, protein purification, Affi-gel blue gel, FPLC (fast protein liquid chromatography), ion-exchange chromatography, gel filtration, subunits, N-terminal structure, hemagglutination activity, pH and temperature stability, MCF-7 cells, breast cancer, HIV-1 reverse transcriptase, inhibition, mitogenic response, thymidine incorporation, macrophages, nitric oxide production, chemical modification, tryptophan, and activity.

ABSTRACT

Lectin was extracted from *Phaseolus vulgaris* seeds and purified using Affi-gel blue gel, fast protein liquid chromatography (FPLC) – ion-exchange chromatography, and FPLC-gel filtration methods. The lectin consists of two 30 kDa subunits, and its N-terminal structure was found to be similar to other *Phaseolus* lectins. The hemagglutination activity of the lectin remained stable within a pH range of 1-14 and a temperature range of 0-80°C. The lectin strongly inhibited the proliferation of MCF-7 (breast cancer) cells with an IC₅₀ of 1.3 μM and suppressed HIV-1 reverse transcriptase activity with an IC₅₀ of 7.6 μM. The lectin also exhibited activity by increasing [3H-methyl]-thymidine incorporation in mouse splenocytes in response to a mitogenic stimulus. However, it did not stimulate nitric oxide production in murine peritoneal macrophages. Chemical modification results indicated that tryptophan is crucial for the hemagglutination activity of the lectin.

ИЗВЛЕЧЕНИЕ ЛЕКТИНА ИЗ ПРИРОДНОГО СЫРЬЯ И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

Рашидова Нодира Кобилжоновна

Ташмухамедова Шохиста Собировна

Ташкентский фармацевтический институт

e-mail: rashidovan93@mail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.15076597>

ARTICLE INFO

Received: 16th December 2024

Accepted: 22th December 2024

Online: 23th December 2024

KEYWORDS

Лектин, *Phaseolus vulgaris*, очистка белков, Affi-gel blue

ABSTRACT

Лектин был выделен из семян *Phaseolus vulgaris* и очищен с помощью методов Affi-gel blue gel, быстрой жидкостной хроматографии белков (FPLC) – ионообменной хроматографии и FPLC-гелевой фильтрации. Лектин состоит из двух субъединиц по



gel, FPLC (быстрая жидкостная хроматография белков), ионообменная хроматография, гелевая фильтрация, субъединицы, N-концевая структура, гемагглютинационная активность, стабильность pH и температуры, клетки MCF-7, рак молочной железы, обратная транскриптаза ВИЧ-1, ингибция, митогенный ответ, включение тимидина, макрофаги, продукция оксида азота, химическая модификация, триптофан и активность.

30 кДа, и его N-концевая структура оказалась схожей с другими лектинами Phaseolus. Гемагглютинационная активность лектина оставалась стабильной в диапазоне pH 1-14 и температур 0-80°C. Лектин значительно подавлял пролиферацию клеток MCF-7 (рак молочной железы) с IC50 1,3 мМ и ингибировал активность обратной транскриптазы ВИЧ-1 с IC50 7,6 мМ. Лектин также проявил активность за счет увеличения включения [3H-метил]-тимидина в спленоцитах мышей в ответ на митогенный стимул. Однако он не стимулировал выработку оксида азота в перитонеальных макрофагах мышей. Результаты химической модификации показали, что триптофан играет ключевую роль в гемагглютинационной активности лектина.

TABIYIY HOM ASHYOLAR TARKIBIDAN LEKTIN MODDASINI AJRATIB OLISH VA UNING FIZIK-KIMYOVIY XUSUSIYATLARINI O'RGANISH

Rashidova Nodira Qobiljon qizi

Tashmuhammedova Shohista Sobirovna

Toshkent Farmasevtika instituti

*e-mail: rashidovan93@mail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.15076597>

ARTICLE INFO

Received: 16th December 2024

Accepted: 22th December 2024

Online: 23th December 2024

KEYWORDS

Lektin, Phaseolus vulgaris, oqsillarni tozalash, Affi-gel blue gel, FPLC (Tez oqsillar suyuqli xromatografiyasi), ion almash xromatografiyasi, gel filtratsiyasi, subbirliklar, N-terminal tuzilishi, gemagglutinatsiya faolligi, pH va harorat barqarorligi, MCF-7 hujayralari, ko'krak bezi saratoni, HIV-1 teskari transkriptaza, ingibitsiya, mitogenik javob, timidin singishi, makrofaglar, azot

ABSTRACT

Lektin Phaseolus vulgaris urug'idan ajratilgan bo'lib, u affi-gel blue gel, tez oqsillar suyuqli xromatografiyasi (FPLC)-ion almash xromatografiyasi va FPLC-gel filtratsiyasi kabi usullar yordamida tozalangan. Lektin ikkita 30 kDa subbirliklardan tashkil topgan bo'lib, ularning N-terminal tuzilishi boshqa Phaseolus lektinlariga o'xshashligi aniqlangan. Lektinning gemagglutinatsiya faolligi pH 1-14 va harorat 0-80°C oralig'ida barqarorligicha qoldi. Lektin MCF-7 (ko'krak bezi saratoni) hujayralarining proliferatsiyasini IC50 1.3 мМ bilan kuchli bostirib tashladi va HIV-1 teskari transkriptazasining faolligini IC50 7.6 мМ bilan ingibitsiya qildi. Lektin, shuningdek, sichqon splenotsitlarida mitogenik javobni keltirib chiqarish orqali [3H-metil]-timidinning singishini oshirish orqali o'z faolligini namoyon qildi. Lektin murin peritoneal makrofaglarida azot oksidi hosil qilishini



oksidni hosil bo'lishi, kimyoviy modifikatsiya, triptofan va faollik.

rag'batlantirmadi. Kimyoviy modifikatsiya natijalari shuni ko'rsatdiki, triptofan lektinning gemagglutinatsiya faolligiga juda muhimdir.

Mavzuning dolzarbligi. Lektinlar oqsillar yoki glikoproteinlar bo'lib, kamida bitta katalitik bo'lmagan domeniga ega bo'lib, ular spetsifik mono- yoki oligosaxaridlarga qaytariluvchan tarzda bog'lanadigan holda tasniflanadi [1]. O'tgan o'n yilliklarda, lektinlar ko'plab tadqiqotchilarning e'tiborini tortgan holda, ularning potentsial foydalanish uchun biologik xususiyatlari, jumladan, antitumor [2, 3], immunomodulyator va anti-insect [4], antifungal [5], antibakterial [6], anti-HIV [2, 5, 7], va mitogenik [8] faolliklari tufayli keng qamrovli tadqiqotlarga sabab bo'ldi. Ularning shakar bog'lanish xususiyatlari tufayli lektinlar hujayra sirtida uglevod tuzilishi va dinamikasini o'rganish uchun molekulyar vositalar sifatida keng qo'llaniladi, shuningdek, normal va yovishgan hujayralarni farqlash [9, 10], glikokon'yugatlarni tozalash [11], va dorilarni qoplamaslikni yaxshilash uchun [12, 13] kabi amaliy maqsadlarda ishlatiladi. Bundan tashqari, lektinlarning uglevodlarga bog'lanish va gemagglutinatsiya faolliklarini saqlab qolish uchun maxsus aminokislotalar zarur bo'lganligi aniqlandi [14–16]. Bu aminokislotalarni aniqlash uchun kimyoviy modifikatsiya guruhlariga xos modifikatsiya qiluvchi moddalar bilan ishlatish keng tarqalgan usuldir [14, 16]. Shuning uchun, lektinlarning biologik faolliklarini aniqlash va ularga zarur bo'lgan aminokislotalarni belgilash muhimdir. Lektinlar o'simlik turlarida keng tarqalgan bo'lsa-da, ularning tuzilishi va faolliklari o'simlik turlariga qarab farq qiladi [9, 10]. Shuning uchun, turli o'simlik turlaridan lektinlarni tozalash va tasniflash tadqiqotchilarni qiziqishini tortadi. Lektinlar haqida ko'proq ma'lumot bo'lsa, bu turdagi oqsillarning ko'proq qo'llanilishiga imkon beradi. Bu ishda *Phaseolus vulgaris* Oddiy loviya navidan ajratilgan lektinning tozalanishi va uning turli biologik faolliklari, jumladan mitogenik, antitumor, immunomodulyator va HIV-1 teskari transkriptazasini ingibitsiya qilish faolliklari tadqiq etildi.

Material va metodlar. Oddiy loviyalari, Western Family Foods Inc., Portland, Ore, AQSh kompaniyasining mahsuloti, mahalliy supermarketdan sotib olindi. Ikki yuz gram Oddiy loviya loviyalari 4 soat davomida suvda yumshatildi. Keyin ular 700 ml distillangan suv bilan Waring blenderda slurryga aylantirildi. Aralash 4°C da 14000 aylanish tezligida 30 daqiqa davomida sentrifugalangan. Tris-HCl buferi (1 M) pH 7.3 da supernatantga qo'shildi, toki Tris konsentratsiyasi 10 mM ga yetguncha. Supernatant Affi-gel blue gel (Bio-Rad, Calif, AQSh) kolonkasiga (5 × 18 sm) yuklatildi, u hamon shu bufer bilan tenglashtirilgan edi. Bog'langan oqsillar 1 M NaCl bilan 10 mM Tris-HCl buferi (pH 7.3) da elyutsiya qilindi, dializ qilindi va liofilizatsiya qilindi, keyin ion almash xromatografiyasi va FPLC-gel filtratsiyasi yordamida tozalashtirildi.

Molekulyar massani SDS-PAGE va FPLC-gel filtratsiyasi yordamida aniqlash

SDS-PAGE Laemmli va Favre [17] usuli bo'yicha 12% ajratuvchi gel va 5% to'plovchi gel bilan o'tkazildi. Elektroforez tugagach, gel Coomassie brilliant blue bilan bo'yandi. Bo'yoqdan keyin elektroforetik harakatliligi marker oqsillari va tozalangan lektin aniqlandi. Lektinning molekulyar massasi elektroforetik harakatlilikka qarab standart chiziq bo'yicha aniqlandi. FPLC-gel filtratsiyasi Superdex 200 HR 10/30 kolonkasi (GE Healthcare) bilan o'tkazildi, u



molekulyar massa standartlari (GE Healthcare) bilan kalibrlangan edi, tozalangan lektinning molekulyar massasini aniqlash uchun.

N-terminal aminokislota tuzilishini tahlil qilish

Aminokislota tuzilishini Hewlett Packard (HP) G1000A Edman degradatsiya bloki va HP 1000 HPLC tizimi yordamida aniqlash uchun ishlatildi.

Gemagglutinatsiya faolligini aniqlash. Lektin (gemagglutinatsiya) faolligini aniqlash uchun lektin eritmasining ikki marta seriyali qilinishi mikrotitr U-platalarda (50 μ L) 2% quyon qon hujayralarining fosfat buferli eritmasi (pH 7.2) bilan 20°C da 1 soat davomida aralashtirildi. Natijalar olingach, blank to'liq holda cho'kkan bo'lganda oqildi. Gemagglutinatsiya titeri, hemagglutinatsiya uchun eng yuqori darajadagi eritmaning teskari qiymati sifatida aniqlanadi. Spetsifik faollik - bir mg oqsilga teng bo'lgan hemagglutinatsiya birliklari soni [18].

Uglevodlar ta'sirida lektin induksiyalangan gemagglutinatsiyaning inhibitsiyasi. Uglevodlar ta'sirida lektin induksiyalangan gemagglutinatsiyaning inhibitsiyasini tekshirish uchun har bir shakar namunalarning ikki marta seriyali qilinishi fosfat buferli eritmada tayyorlandi. Barcha eritmalar lektinning 16 hemagglutinatsiya birliklari bilan teng miqdordagi (25 μ L) eritmasi bilan aralashtirildi. Aralash 30 daqiqa xona haroratida saqlanib turildi, keyin 50 μ L 2% quyon eritrotsitlar suspenziyasi bilan aralashtirildi. Lektin preparatining 16 hemagglutinatsiya birliklarini to'liq inhibitsiya qilish uchun eritmada shakarining eng past konsentratsiyasi aniqlandi [18].

Harorat ta'sirida lektin induksiyalangan gemagglutinatsiyaga ta'sir

Lektinning gemagglutinatsiya faolligiga haroratning ta'siri 0°C, 10°C, 20°C, 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C, 90°C va 100°C haroratlarda 30 daqiqa davomida inkubatsiya qilinib tekshirildi. Keyin naychalar muzlatkichga qo'yildi va gemagglutinatsiya faolligini aniqlash uchun tekshirildi [19].

pH ta'sirida lektin induksiyalangan gemagglutinatsiyaga ta'sir

Lektinning (1 mg/mL) turli pH qiymatlari (1.0-14.0) ga ega buferlarda 60 daqiqa davomida inkubatsiya qilinib, pH ta'sirini aniqlash uchun ishlatildi. Lektin eritmasining pH ni 7.0 ga tenglashtirish uchun 0.1 N HCl yoki 0.1 N NaOH qo'shildi, keyin gemagglutinatsiya faolligini aniqlash uchun tekshirildi.

Tumor hujayralar liniyalarida antiproliferativ faollikni aniqlash

Ko'krak bezi saratoni MCF-7 hujayralari yoki gepatosellulyar saraton HepG2 hujayralari RPMI ozuqasida suspenziya holiga keltirildi va hujayralar zichligi 5×10^4 hujayra/mL ga tenglashtirildi. Hujayralarning 100 μ L alikvoti 96-hujayrali plastinkaning bir hujayrasiga ekildi, keyin 24 soat davomida inkubatsiya qilindi. Lektinning turli konsentratsiyalari 100 μ L to'liq RPMI ozuqasida hujayralarga qo'shildi va 24 soat davomida inkubatsiya qilindi. 24 soatdan keyin har bir hujayraga 50 μ L 5 mg/mL 3-(4, 5-dimetiltiazol-2-yl)-2, 5-difeniltetrazolium bromidi (MTT) fosfat buferli eritmasi qo'shildi va plastinkalar 2 soat davomida inkubatsiya qilindi. Plastinkalar keyin 2500 aylanish tezligida 5 daqiqa davomida sentrifugalangan. Supernatantni ayyorlik bilan chiqarib tashlandi va har bir hujayraga 150 μ L dimetilsulfoksid qo'shildi, u eritilgan MTT (formazan)ni hujayralarning pastki qismida eritish uchun. 590 nm da absorbatsiya mikroplatka o'qish qurilmasi bilan o'lchandi.

HIV teskari transkriptazasining inhibitsiyasini aniqlash



Oddiy loviya loviya lektinining HIV-1 teskari transkriptazasini inhibitsiya qilish faolligini Boehringer Mannheim (Germaniya) tomonidan ishlab chiqarilgan enzim immunosorbent analiz test naychasi yordamida aniqlash uchun Collins va boshqalar [20] usuli bo'yicha o'tkazildi. Bu test teskari transkriptazaning DNA sintez qilish qobiliyatidan foydalanadi, u poly(a)-oligo(dT) 15 gibrid shablon/primerdan boshlanadi. Radioaktiv izotoplardan farqli o'laroq, digoksigening va biotinli nukleotidlarning belgilangan nisbati bir vaqtning o'zida bir xil DNA molekulasi tarkibiga kiritiladi, u teskari transkriptaza (RT) tomonidan yangi sintezlangan. Keyin digoksigenga bog'langan DNA sirtiga streptavidin bilan oldindan qoplangan mikrotitr plastinka modullariga bog'lanadi. Keyingi bosqichda digoksigenga bog'langan antitel (anti-DIG-POD) digoksigenga bog'langan DNAGA bog'lanadi. Oxirgi bosqichda peroksidaz substrati qo'shiladi. Peroksidaz fermenti substratni parchalab chiqaradi, bu esa rangli reaksiya mahsulotini hosil qiladi. Spektrofotometr bilan 405 nm da absorbansiya o'lchanganda, natija RT faolligiga to'g'ridan-to'g'ri bo'ladi. Tajribada 4-6 ng rekombinant HIV-1 teskari transkriptazasidan foydalanildi. Tozalangan oqsilning inhibitor faolligini kontrolsiz lektin bilan solishtirib, foizlik inhibitsiyasi hisoblandi [20].

Murin peritoneal makrofaglarida azot oksidi hosil qilishini aniqlash

Tajrib Wong va Ng [21] usuli bo'yicha o'tkazildi. Makrofaglar sichqonlarning peritoneal bo'shlig'idan lipopolisaxarid eritmasi bilan intraperitoneal injeksiya qilinganidan keyin olingan. Hujayralar RPMI ozuqasida 10% inaktivlangan fetal bovin serumi, 100 ME/mL penitsillin va 100 mg/mL streptomitsin bilan yuvilgan holda yuvilgan. Hujayralar (2×10^5 hujayra/hujayra) 1 soat davomida 96-hujayrali kultura plastinkasiga ekilgandan keyin Oddiy loviya loviya lektini bilan 24 soat davomida inkubatsiya qilindi. Kultura muhitidagi azot oksidi miqdorini rangometrik usul bilan aniqlash uchun kultura muhitining hujayrasiz 100 μ L alikvoti 50 μ L Griess reagentiga (1% sulfanilamid 5% H₃PO₄-0.1% naftalenetiamin dihidroksid) 10 daqiqa davomida aralashtirildi, keyin 540 nm da absorbansiya mikroplatka o'qish qurilmasi bilan o'lchandi. Lipopolisaxarid bu tajribada ijobiy nazorat sifatida ishlatildi. Dekametazon (5 μ M) bu tajribada iNOS inhibitor sifatida ishlatildi.

Antifungal faollikni aniqlash

Oddiy loviya loviya lektinining Botrytis cinerea, Mycosphaerella arachidicola va Fusarium oxysporumga nisbatan antifungal faolligini 90 \times 15 mm Petri plastinkalarida tekshirildi, ular 10 ml kartoshka dekstroza agariga ega edi, chunki ba'zi lektinlar antifungal faollikka ega ekanligi haqida ma'lumotlar mavjud [4]. Mikrospora koloniyasi rivojlangach, steril bo'sh qog'oz disk (diametri 0.625 sm) mikrospora koloniyasining chetiga 0.5 sm masofada joylashtirildi. Oddiy loviya loviya lektinining eritmasi diskga qo'shildi. Plastinkalar 25°C da 72 soat davomida saqlanildi, toki mikrospora o'sishi disklar atrofida inhibitsiya hosil qilmaguncha davom etdi.

Mitogenik faollikni aniqlash

To'rt C57BL/6 sichqonlari (20-25 g) bo'yin dislokatsiyasi bilan o'ldirildi va ularning splenlari steril sharoitda olib tashlandi. Splen hujayralari 100-meshless po'latli to'rda sichqarib, RPMI 1640 kultura muhitida 10% fetal bovin serumi, 100 ME/mL penitsillin va 100 μ g/mL streptomitsin bilan boyitilgan holda suspenziya holiga keltirildi. Hujayralar (7×10^5 hujayra/100 μ L/hujayra) 96-hujayrali kultura plastinkaga ekildi va Oddiy loviya loviya lektinining turli konsentratsiyalari 100 μ L muhitda qo'shildi. Hujayralar 37°C da 5% CO₂



bilan namlangan atmosferada 24 soat davomida inkubatsiya qilindi, keyin har bir hujayraga 10 μL [3H]-timidin (0.25 μCi , GE Healthcare) qo'shildi va shunga o'xshash sharoitlarda qayta 6 soat davomida inkubatsiya qilindi. Hujayralar avtomatik hujayra yig'uvchisi bilan to'plangan shishali tolali filtrga to'plandi va radioaktivlik Beckman model LS 6000SC sintillatsiya hisoblagich bilan o'lchandi. Barcha qiymatlar uch marta takrorlangan namunalarning o'rtacha qiymatlaridir [19].

Kimyoviy modifikatsiya ta'sirida aminokislota qoldiqlarining gemagglutinatsiya faolligiga ta'siri

Serin modifikatsiyasi uchun lektin (100 μg) 0.1 mL 50 mM Tris-HCl buferi (pH 7.4) da 27°C davomida 1 soat davomida 5 mM fenilmetilsulfonil fluorid (PMSF) bilan inkubatsiya qilindi [19]. Alikvotlar 15 daqiqada olingan. Ziyod reagentni ultrafiltratsiya orqali olib tashlash, keyin qolgan gemagglutinatsiya faolligini aniqlash. Lektin PMSF bilan inkubatsiya qilmagan holda nazorat sifatida ishlatildi.

Triptofan qoldiqlarining reduksiyasi lektin (100 μg) ni 0.1 mL 50 mM fosfat buferi (pH 8.0) da 27°C davomida 1 soat davomida 0.1 mM 5, 5'-ditiobis-(2-nitrobenzoy kislota) (DTNB) bilan inkubatsiya qilish orqali amalga oshirildi [24]. Alikvotlar turli vaqtlarda olingan. Ziyod reagentni ultrafiltratsiya orqali olib tashlash, keyin qolgan gemagglutinatsiya faolligini aniqlash. Lektin DTNB bilan inkubatsiya qilmagan holda nazorat sifatida ishlatildi.

Lizin modifikatsiyasi uchun 0.5 mg NaBH_4 5 mg lektin bilan 2 mL 0.2 M natriy borat buferi (pH 9.0) da 4°C da qo'shildi, keyin 10 daqiqada 5 μL dan 3.5% formaldehidning olti marta qo'shildi. Ziyod reagentni ultrafiltratsiya orqali olib tashlash, keyin qolgan gemagglutinatsiya faolligini aniqlash. Lektin natriy borogidrid (NaBH_4) bilan inkubatsiya qilmagan holda nazorat sifatida ishlatildi [19].

Triptofan qoldiqlarini modifikatsiya qilish Spande va Witkop [20] usuli bo'yicha amalga oshirildi. Lektin 1 mg/mL da NaOAc buferi (0.1 M, pH 5.0) da eritildi. Modifikatsiya 20°C da amalga oshirildi. N-bromosukcinimid (NBS) (10 μL , 10 mM) har 5 daqiqada qo'shildi. Triptofan qoldiqlarining soni Spande va Witkop [20] usuli bo'yicha aniqlandi. Namunalarni ultrafiltratsiya orqali tuzsizlantirish, keyin gemagglutinatsiya faolligini aniqlash. Lektin NBS bilan inkubatsiya qilmagan holda nazorat sifatida ishlatildi.

Tirozin qoldiqlarining asetilatsiyasi xona haroratida lektin (300 μg) 1.0 mL 25 mM fosfat buferi (pH 7.5) da 60 marta molar ziyod N-asetilimidazol bilan inkubatsiya qilish orqali amalga oshirildi. Ziyod reagentni ultrafiltratsiya orqali olib tashlash, keyin qolgan gemagglutinatsiya faolligini aniqlash. Lektin N-asetilimidazol bilan inkubatsiya qilmagan holda nazorat sifatida ishlatildi [20].

Natijalar va ularning muhokamasi. Oddiy loviya urug'i lektinini tozalash uchun dastlab 10 mM Tris-HCl buferi (pH 7.3) da ekstraksiya qilindi va uch bosqichli xromatografiya, jumladan, Affi-gel blue gel, ion almash xromatografiyasi va gel filtratsiyasi amalga oshirildi. Affi-gel blue gel kolonkasi yordamida Oddiy loviya loviya ekstraktining fraksiyalanishi B1 deb nomlangan kichikroq adsorbsiya qilinmagan fraksiya va B2 deb nomlangan kichikroq adsorbsiya qilingan fraksiya hosil qildi Keyingi fraksiyalashda, gemagglutinatsiya faolligi B2 fraksiyasida joylashganligi aniqlandi, u Mono S da kichikroq adsorbsiya qilingan fraksiyaga ajratildi. Keyin FPLC-gel filtratsiyasi orqali SU1 va SU2 deb nomlangan ikkita fraksiya hosil qildi, ulardan faqat SU1 gemagglutinatsiya faolligiga ega edi Tozalangan lektin, SU1



tomonidan ifodalangan, SDS-PAGE da bitta 30 kDa bandini hosil qildi va Superdex 200 da 60 kDa absorbansiya cho'qqisi bilan namoyon bo'ldi. Har bir tozalash bosqichidagi mahsulotning hosili va spetsifik gemagglutinatsiya faolligi 1-jadvalda ko'rsatilgan. Oddiy loviya loviya lektinining N-terminal tuzilishi boshqa Phaseolus lektinlariga juda o'xshashligi aniqlandi. Lektinning gemagglutinatsiya faolligi oddiy shakar, N-asetil shakar va glikoproteinlar tomonidan inhibitsiya qilinmadi. Lektinning gemagglutinatsiya faolligi 0°C dan 80°C gacha barqaror bo'lib qoldi, 90°C da esa faolligi pasaydi. 100°C da ham faolligi saqlanib qoldi. Lektin pH 1-14 oralig'ida ham barqarorligicha qoldi. Oddiy loviya loviya lektinining HIV-1 teskari transkriptazasini IC₅₀ 7.6 μM bilan inhibitsiya qildi. Lektin Hep G2 hujayralariga nisbatan zaif antiproliferativ faollikka ega bo'lib, IC₅₀ 8 μM dan oshib ketdi, MCF-7 hujayralariga nisbatan esa IC₅₀ 1.3 μM edi. Lektin sichqon splenotsitlarida mitogenik javobni 1.04 μM da optimal javob bilan keltirib chiqardi. Biroq, u makroflaglarda azot oksidi hosil qilishiga ta'sir qilmadi. Oddiy loviya loviya lektinining antifungal faolligi aniqlanmadi. Kimyoviy modifikatsiya natijalari 3-jadvalda ko'rsatilganidek, triptofan va serin qoldiqlari lektinning gemagglutinatsiya faolligiga muhim ahamiyatga ega.

Xulosa. Bu ishda Oddiy loviya loviya urug'idan uch bosqichli xromatografiya yordamida tozalangan yangi bir lektin tasviflandi. Bu lektin Affi-gel blue gelga bog'lanadi va Mono S ga ham bog'lanadi, bu uni boshqa Phaseolus lektinlaridan farq qiladi. Lektin ikkita 30 kDa subbirlikdan tashkil topgan bo'lib, bu Phaseolus lektinlarining ko'pchiligi uchun xosdir. Lektin oddiy shakar bilan bog'lanmaydi, bu uni boshqa Phaseolus lektinlaridan farq qiladi. Lektin harorat va pH ga nisbatan juda barqarordir. U HIV-1 teskari transkriptazasini inhibitsiya qilish qobiliyati va sichqon splenotsitlarida mitogenik javobni keltirish qobiliyati tufayli u antitumor faollikka ega bo'lishi mumkin. Kimyoviy modifikatsiya natijalari shuni ko'rsatdiki, triptofan va serin qoldiqlari lektinning gemagglutinatsiya faolligiga muhimdir.

References:

1. Peumans W.J. and Van Damme E.J.M., Lectins as plant defense proteins, *Plant Physiology* 1995; 109:347-350
2. Barondes S.H. Bifunctional properties of lectins: lectins redefined, *Trends Biochem Sci* 1988; 13:480-2.
3. Sumner J.B., Gralén N., Eriksson-Quensel I.B., "The molecular weights of canavalin, concanavalin A and Concanavalin B", *The Journal of Biological Chemistry* 2002; 125: 45-48.
4. Goldstein I.J., Poretz R.D., "Isolation, physicochemical characterization, and carbohydrate-binding specificity of lectins", *The Lectins Properties, Functions and Applications in Biology and Medicine* 1986; 25: 233-247.
5. Van Parijs J., Willem F., Broekaert W.F., Peumans W.J., Hevein: an antifungal protein from rubber-tree latex, *Planta* 1991; 183: 258-264.
6. Van Damme E.J.M., Willy J.P., Annick B., Pierre R., Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles, *Crit. Rev. Plant Science* 1998; 17: 575-692.
7. Ofek I. and Sharon N., Adhesins as lectins: specificity and role in infection, *Curr Top Microbiol Immunol* 1990; 151, 91-113.



8. Ofek I. and Doyle R.J., Common themes in bacterial adhesion, In: Bacterial Adhesion to Cells and Tissues 1994; 35: 513-562.
9. Ofek I. and Doyle R.J., Recent developments in bacterial adhesion to animal cells. In: Bacterial Adhesion to Cells and Tissues 1994; 33: 321-512.
10. Etzler M.E., Distribution and Function of Plant Lectins. In: The lectins Properties Functions and Applications in Biology and Medicine, Liener, Academic Press 1986; 3: 371-435.
11. Van Damme E.J.M., Willy J.P., Annick B., Pierre R., Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles, Crit. Rev. Plant Science 1998; 17: 575-692.
12. Vijayan M. and Chandra N., Lectins, Curr. Opin. Struct. Biol 1999; 9: 707- 714.
13. Rahbe Y., Sauvion N., Febvay G., Peumans W.J., Gatehouse A.M.R., Toxicity of lectins and processing of ingested proteins in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*, Entomol Exp Appl 1995; 76: 143-155
14. Hilder V.A., Powell K.S., Gatehouse A.M.R., Gatehouse J.A., Gatehouse L.N., Shi Y., Hamilton W.D.O., Merryweather A., Newell C., Timans J.C., Peumans W.J., Van Damme E.J.M., Boulter D., Expression of snowdrop lectin in transgenic tobacco plants results in added protection against aphids Transgenic Res. 1995; 4: 18-25.
15. Collinge D. B., Kragh K. M., Mikkelsen J. D., Nielsen K. K., Rasmussen U., Vad K., Plant chitinases, The Plant Journal 1993; 3, 31-40.
16. Kieliszewski M.J., O'Neill M., Leykam J., Orlando R., Tandem mass spectrometry and structural elucidation of glycopeptides from a hydroxyproline-rich plant cell wall glycoprotein indicate that contiguous hydroxyproline residues are the major sites of hydroxyproline-O-arabinylation, J Biol Chem 1995; 270: 2541-2549.
17. Laemmli U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, Nature 1970; 227: 680-685.
18. Favre J., A simple and rapid method for the determination of the molecular weights of proteins by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, J Biol Chem 1975; 250: 7453-7455.
19. Collins P.W., Ng T.B., Tam J.P., A simple chemical method for the synthesis of bifunctional heterocrosslinkers, J Biol Chem 1991; 266: 14106-14109.
20. Wong C.K., Ng T.B., Anti-inflammatory and immunomodulating properties of *Cinnamomum zeylanicum*, Biochem Pharmacol 1999; 58: 1791-1798.