

УДК 547.963.1:543.9

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

В. О. Антонюк^{1,2}Л. В. Панчак^{1,2}М. О. Старикович¹Х. С. Струтовська²Р. С. Стойка¹¹Інститут біології клітини НАН України, Львів²Львівський національний медичний університет
ім. Данила Галицького, Україна

E-mail: Antonyuk @meduniv.lviv.ua

Отримано 28.11.2012

Із цибулин гіацинтика гостролопатевого (*Hyacinthella acutiloba* K. Perss.) афінною хроматографією на дріжджовому манані та подальшою іонообмінною хроматографією на DEAE-Toyorearl очищено новий лектин з виходом 6,5 мг/кг свіжої сировини. Найкращим інгібітором цього лектину серед випробуваних моно- і дисахаридів була D-тураноза (GlcP α 1-3 FruF). Дуже сильним інгібітором активності лектину є дріжджовий манан. Слабкими інгібіторами були α -метил-D-манопіранозид, D-фруктоза і 2-ацетамідо-D-галактопіранозид. Лектин також слабо взаємодіяв із глікогеном печінки свині, крохмалем і манозовмісними глікопротеїнами (ячний альбумін, овомукоїд та тиреоглобулін бика) і не взаємодіяв з пероксидазою хрому та лужною фосфатазою кишечника теляти.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Матеріали і методи

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

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

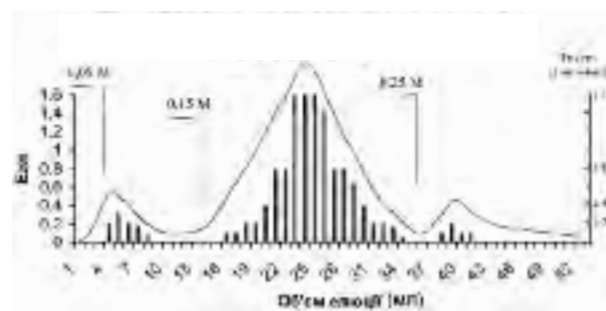


Рис. 1. Очищення лектину *Hyacinthella acutiloba* іонообмінною хроматографією: стрілками позначено місце нанесення зразка і молярність фосфатного буфера; стовпчиками показано місце виходу лектину за гемаглютинуючою активністю щодо еритроцитів кролика (шкала праворуч)

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

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

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

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

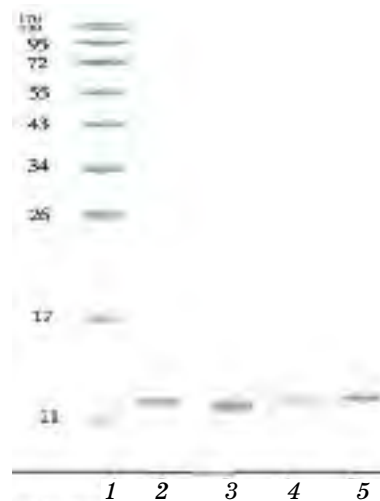
Для характеристики вуглеводної специфічності лектину використовували: D-глюкозу, D-фруктозу, D-галактозу, сахарозу, мальтозу, лактозу (Союзхимреактив), рафінозу (Fluka, Швейцарія), α - і β -метил-D-галактозиди, L-рамнозу, 2-ацетамідо-D-галактопіранозид та 2-ацетамідо-D-глюкопіранозид (Chemapol, Чехія),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

Результати та обговорення

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

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

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



20% ПААГ, рН 8,6 з 0,1% ДДС-Na

1 — протеїни-маркери мол. маси; 2 — NPA; 3 — НАВА; 4 — АСА; 5 — GNA

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

За рН 7,2 лектин є гомотетрамером — його молекулярна маса, визначена гелі-хроматографією, становила 48 кДа.

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

Можна припустити, що достатньо сильна взаємодія лектину з D-туранозою (Glcр α 1-3 Fgluf) пояснюється селективністю лектину до α 1-3-зв'язків і відносною нерозбірливістю до глюко- чи манопіранозильного циклу або ж вирішальне значення для взаємодії

Таблиця 1. Взаємодія манозоспецифічних лектинів з еритроцитами людини і тварин

Лектин	Мінімальна концентрація лектину (мкг/мл), що спричинює аглютинацію еритроцитів				
	Кролик	Мурчак	Щур	Людина (групи O, A, B)	Коза
НАВА	19	625	2500	–	–
МВА	9,75	2,44	2500	–	–
NPA	9,75	19	312	–	–
GNA	9,75	312	–	–	–
LVA	4,88	9,75	625	–	–
PMRA	4,88	78	9,75	–	–
ASA	19	312	1250	–	–

Примітка. Прочерк означає відсутність аглютинації у концентрації 10 000 мкг/мл; **НАВА** — *Niacintella acutiloba bulb agglutinin*, лектин гіацинтника гостролопатевого; **МВА** — *Musa banana agglutinin*, лектин м'якоти плодів банана; **NPA** — *Narcissus pseudonarcissus agglutinin*, лектин цибулин нарциса; **GNA** — *Galanthus nivalis agglutinin*, лектин цибулин підсніжника; **LVA** — *Leucojum vernum agglutinin*, лектин цибулин білоцвіту весняного; **PMRA** — *Polygonatum multiflorum rhizomae agglutinin*, лектин кореневищ купини багатоквіткової; **ASA** — *Allium sativum agglutinin*, лектин зубків часнику.

Таблиця 2. Взаємодія лектинів з вуглеводами та глікопротеїнами

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

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

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

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

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

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

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

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

ЛІТЕРАТУРА

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

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

В. О. Антоныук^{1,2}
Л. В. Панчак^{1,2}
*М. О. Старикович*¹
*Х. С. Струтовская*²
*Р. С. Стойка*¹

¹Институт биологии клетки НАН Украины,
Львов

²Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина

E-mail: Antonyuk @meduniv.lviv.ua

Из луковиц гиацинтника остролопастного (*Hyacinthella acutiloba* K. Perss.) аффинной хроматографией на дрожжевом маннине и последующей ионообменной хроматографией на DEAE-Toyorearl очищен новый лектин с выходом 6,5 мг/кг свежего сырья. Наилучшим ингибитором лектина среди испытанных моно- и дисахаридов была D-тураноза (GlcP α 1-3 FruF). Очень сильным ингибитором активности лектина является дрожжевой маннан. Слабыми ингибиторами активности были α -метил-D-маннопиранозид, D-фруктоза и 2-ацетамидо-D-галактопиранозид. Лектин также слабо взаимодействовал с гликогеном печени свиньи, крахмалом и маннозосодержащими гликопротеинами (яичным альбумином, овомукоидом, тиреоглобулином быка) и не взаимодействовал с пероксидазой хрена и щелочной фосфатазой кишечника теленка.

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

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

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

V. O. Antonyuk^{1,2}
L. V. Panchak^{1,2}
*M. O. Starykovych*¹
*K. S. Strutovskaya*²
*R. S. Stoika*¹

¹Institute of Cell Biology
of National Academy of Sciences of Ukraine,
Lviv

²Danylo Halytsky Lviv National Medical
University, Ukraine

E-mail address: antonyuk@meduniv.lviv.ua

A new lectin with 6.5 mg/kg yield was purified from fresh bulb *Hyacinthella acutiloba* K. Perss. by combination of affinity chromatography on yeast mannan and by ion exchange chromatography on DEAE-toyorearl. The best lectin inhibitor among tested mono- and disaccharides was D-turanose (GlcP α 1-3 FruF). Very powerful inhibitor of lectin activity was yeast mannan. The lectin revealed weak affinity to α -methyl-D-mannoside, D-fructose and 2-acetamido-D-galactopyranoside. The lectin interacted also with pig liver glycogen, starch and mannan-containing glycoproteins (ovoalbumin, ovomucoid and calf thyroglobulin), but don't interacted with horseradish peroxidase and calf intestine alkaline phosphatase.

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

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