



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA

MANOEL FERREIRA DA COSTA FILHO

**CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E ESTRUTURAL DE UMA LECTINA DA
ALGA MARINHA VERMELHA *Osmundaria obtusiloba* (C. AGARDH) R.E. NORRIS,
1991.**

FORTALEZA

2022

MANOEL FERREIRA DA COSTA FILHO

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E ESTRUTURAL DE UMA LECTINA DA ALGA
MARINHA VERMELHA *Osmundaria obtusiloba* (C. AGARDH) R.E. NORRIS, 1991.

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do Título de Engenheiro de Pesca. Área de concentração: Biotecnologia marinha.

Orientador: Prof. Dr. Celso Shiniti Nagano.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C874c Costa Filho, Manoel Ferreira da.
Caracterização bioquímica e estrutural de uma lectina da alga marinha vermelha *Osmundaria obtusiloba* (C. Agardh) R.E. Norris, 1991. / Manoel Ferreira da Costa Filho. – 2022.
73 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2022.
Orientação: Prof. Dr. Celso Shiniti Nagano.

1. Alga marinha vermelha. 2. Lectina. 3. Estrutura primária. I. Título.

CDD 639.2

MANOEL FERREIRA DA COSTA FILHO

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E ESTRUTURAL DE UMA LECTINA DA ALGA
MARINHA VERMELHA *Osmundaria obtusiloba* (C. AGARDH) R.E. NORRIS, 1991.

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro de Pesca. Área de concentração: Biotecnologia marinha.

Aprovada em: 09 / 02 / 2022 .

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Celso Shiniti Nagano (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Rômulo Farias Carneiro
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Renata Pinheiro Chaves
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por estar comigo em todos os momentos e me proporcionar bem mais do que eu imaginei.

À minha família, principalmente minha mãe Maria Neuba, por todo apoio.

Ao meu orientador, professor Dr. Celso Shiniti Nagano, pela oportunidade de entrar nesse grupo e nesse universo da biotecnologia marinha. Por todos os ensinamentos, experiências, apoio, atenção e exemplos, como pessoa e profissional, que o senhor compartilhou e que ajudaram na minha formação. Enfim, por toda orientação, muito obrigado.

Ao professor Dr. Rômulo Farias Carneiro, pelos ensinamentos, oportunidades e vivência, e por aceitar fazer parte da banca avaliadora.

À Dra. Renata Pinheiro Chaves, por toda ajuda, paciência, vivência e ensinamentos durante todo esse tempo e por aceitar fazer parte da banca avaliadora.

Ao professor Dr. Alexandre Holanda Sampaio, pela oportunidade de fazer parte desse grupo.

À Andressa, por toda orientação, ajuda, paciência e ensinamentos ao longo desse ciclo. Por estar sempre disponível para compartilhar seus conhecimentos e experiências, sempre acessível e atenciosa. Muito obrigado.

Aos meus companheiros de bancada, Maurílio e Philippe, por toda ajuda e companheirismo.

Aos colegas que tive no laboratório, Vinícius, Levi, Pedro Abílio, Pedro Arthur, Renato, Jéssica, Regi, Juliana, Victória, Lívia e Malu, entre outros, por toda à ajuda.

E aos colegas de colégio e curso, especialmente, Eduardo, Júlio Cesar, Francisco Barbosa, Amanda, Shamuel, Guilherme Brasil e Daniel.

“Quem não senta para aprender não pode
levantar para ensinar”

Paulo Freire

RESUMO

Os avanços da biotecnologia trazem cada vez mais novos horizontes para o mundo contemporâneo, haja visto sua preocupação com o melhoramento, criação e gerenciamento de novos produtos, como, por exemplo, na área da biomedicina. Nesse contexto, as algas marinhas vermelhas se apresentam como organismos ricos em compostos com potencial biotecnológico promissor, entre eles as lectinas. As lectinas constituem um grupo de proteínas ou glicoproteínas de origem não imune, que se ligam de forma específica e reversível a carboidratos, podendo apresentar diversas atividades biológicas. Elas vêm tendo seus estudos ampliados devido ao seu potencial no âmbito da saúde e sua vasta distribuição nos organismos. Essas atividades biológicas estão relacionadas com as interações proteína-carboidrato dessas moléculas, por isso, os estudos estruturais são importantes para elucidar a função e aplicabilidade de lectinas. O presente trabalho objetivou realizar a purificação e a caracterização bioquímica e estrutural de uma lectina presente na alga marinha vermelha *Osmundaria obtusiloba*. A OOL (*Osmundaria obtusiloba lectin*) foi purificada a partir de uma combinação de precipitação salina e de cromatografias de troca iônica e afinidade. A lectina isolada apresentou em SDS-PAGE uma banda única com massa molecular de aproximadamente 15 kDa na ausência de 2-mercaptoetanol, e em condições redutoras apresentou massa molecular de aproximadamente 20,2 kDa. Em cromatografia de gel filtração sua massa nativa foi estimada em 45 kDa e em ESI-MS (Ionização por Electrospray - Espectrometria de massas) sua massa molecular foi de 18.474 ± 2 Da. OOL foi capaz de aglutinar eritrócitos nativos de coelho. A atividade hemaglutinante da lectina foi inibida por manana de levedura, tiroglobulina suína, asialofetuína, transferrina humana e apresentou maior estabilidade em pH neutro. A estrutura primária parcial de OOL foi determinada por sequenciamento MS/MS de peptídeos trípticos.

Palavras-chave: Alga marinha vermelha. Lectina. Estrutura primária.

ABSTRACT

Advances in biotechnology are bringing new horizons to the contemporary world, given its concern with the improvement, creation and management of new products, such as in biomedicine. In this context, red seaweeds presents as organisms rich in compounds with promising biotechnological potential, including lectins. Lectins constitute a group of proteins or glycoproteins of non-immune origin which bind specifically and reversibly to carbohydrates, and have different biological activities. The studies are expanded due to their potential in the field of health and their wide distribution in organisms. These biological activities are related to protein-carbohydrate interactions of these molecules, therefore, structural studies are important to elucidate the function and indicate the applicability of lectins. The present work aimed the purification and biochemical and structural characterization of a lectin from the red seaweed *Osmundaria obtusiloba*. OOL (*Osmundaria obtusiloba* lectin) was purified by combination of saline precipitation, ion exchange and affinity chromatography. The isolated lectin showed on SDS-PAGE a single band with an apparent molecular mass of 15 kDa in the absence of 2-mercaptoethanol, and under reducing conditions it presented a molecular mass of approximately 20,2 kDa. By gel filtration chromatography, its native mass was estimated in 45 kDa and in ESI-MS (Electrospray Ionization - Mass Spectrometry) its molecular mass was 18.474 ± 2 Da. OOL was able to agglutinate native rabbit erythrocytes. The hemagglutinating activity of the lectin was inhibited by yeast mannan, porcine thyroglobulin, asialofetuin, human transferrin and present stability at neutral pH. The partial primary structure of OOL was determined by sequencing the peptides by (MS/MS) from tryptic digestion.

Keywords: Red seaweed. Lectin. Primary structure.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Osmundaria obtusiloba</i>	21
Figura 2 – Cromatografia de troca iônica em coluna de DEAE-Celulose	39
Figura 3 – Cromatografia de afinidade em matriz de Goma de guar	40
Figura 4 – Efeito do pH na atividade hemaglutinante	46
Figura 5 – SDS-PAGE da cromatografia de afinidade	47
Figura 6 – Estimativa da massa molecular nativa de OOL por cromatografia de exclusão molecular	49
Figura 7 – Determinação da massa molecular de OOL por espectrometria de massa com ionização por eletrospray (ESI MS)	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Lectinas de algas vermelhas com estrutura primária determinada	29
Tabela 2	– Atividade hemaglutinante do extrato bruto da alga <i>Osmundaria</i>	42
Tabela 3	– Atividade hemaglutinante das etapas de purificação de OOL com eritrócitos de coelho (nativo)	42
Tabela 4	– Atividade hemaglutinante da OOL com eritrócitos de coelho, nativos e tratados com enzimas proteolíticas (U.H./mL ⁻¹)	43
Tabela 5	– Inibição da atividade hemaglutinante	43
Tabela 6	– Teste de dependência de cátions divalentes da OOL	46
Tabela 7	– Peptídeos sequenciados de OOL resultantes da digestão trípica	50

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Biotecnologia marinha	14
<i>1.1.1</i>	<i>Compostos bioativos de organismos marinhos</i>	15
1.2	Algas marinhas	16
<i>1.2.1</i>	<i>Compostos isolados de algas marinhas</i>	18
<i>1.2.2</i>	<i>Filo Rhodophyta</i>	20
<i>1.2.2.1</i>	<i>Tribo Amansieae</i>	20
<i>1.2.2.1.1</i>	<i>Osmundaria obtusiloba</i>	21
1.3	Lectinas	22
<i>1.3.1</i>	<i>Potencial biotecnológico de lectinas</i>	24
<i>1.3.2</i>	<i>Lectinas de algas marinhas</i>	24
<i>1.3.2.1</i>	<i>Lectinas de algas marinhas vermelhas</i>	26
<i>1.3.2.1.1</i>	<i>Potencial biomédico de lectinas de algas marinhas vermelhas</i>	26
<i>1.3.2.1.2</i>	<i>Lectinas de algas marinhas vermelhas como agentes antivirais</i>	27
1.4	Caracterização estrutural de lectinas	28
<i>1.4.1</i>	<i>Estruturas primárias de lectinas</i>	28
2	OBJETIVO	32
3	METODOLOGIA	33
3.1	Purificação da lectina	33
<i>3.1.1</i>	<i>Coleta do material biológico</i>	33
<i>3.1.2</i>	<i>Preparação do extrato proteico</i>	33
<i>3.1.3</i>	<i>Teste de hemaglutinação</i>	33
<i>3.1.4</i>	<i>Isolamento da lectina</i>	34
<i>3.1.5</i>	<i>Avaliação da pureza da lectina</i>	34
3.2	Estimativa da massa molecular	34
3.3	Inibição da atividade hemaglutinante	34
3.4	Caracterização físico-química da lectina	35
3.5	Determinação da estrutura primária	35
<i>3.5.1</i>	<i>Determinação da massa intacta</i>	35

3.5.2	Determinação da sequência de aminoácidos por espectrometria de massas (MS/MS)	36
3.5.2.1	<i>Digestão da lectina com enzimas proteolíticas em gel</i>	36
3.5.2.2	<i>Sequenciamento dos peptídeos obtidos por digestão</i>	36
3.5.2.3	<i>Análise de dados</i>	36
3.5.2.4	<i>Análise dos peptídeos sequenciados</i>	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1	Purificação da lectina	38
4.1.1	<i>Cromatografia de troca iônica</i>	38
4.1.2	<i>Cromatografia de afinidade</i>	40
4.2	Caracterização bioquímica	41
4.2.1	<i>Atividade hemaglutinante</i>	41
4.2.2	<i>Inibição da atividade hemaglutinante</i>	43
4.3	Caracterização físico-química	45
4.3.1	<i>Efeito de pH</i>	45
4.3.2	<i>Efeito de íons divalentes</i>	46
4.4	Caracterização estrutural	47
4.4.1	<i>Estimativa da massa molecular</i>	47
4.4.1.1	<i>Estimativa de massa molecular por eletroforese</i>	47
4.4.1.2	<i>Estimativa de massa molecular nativa por exclusão molecular</i>	48
4.4.2	<i>Determinação da massa molecular intacta</i>	49
4.4.3	<i>Determinação da estrutura primária parcial de OOL</i>	50
5	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

1.1 Biotecnologia marinha

A biotecnologia marinha é uma área da ciência que vem se expandindo nos últimos anos, definida como a aplicação industrial, médica ou ambiental de recursos biológicos provenientes do meio marinho, ou ainda, como um conjunto de técnicas biológicas desenvolvidas por meio de pesquisa básica para fornecer bens e serviços. Essa ciência se destaca por explorar o meio marinho, que diferentemente da maioria dos outros *habitats* da Terra, ainda é um ambiente pouco utilizado para a aquisição de substâncias com funções importantes para a sociedade (BURGESS, 2012; QUERELLOU *et al.*, 2010; KIM; VENKATESAN, 2015).

Considerando os oceanos como a maior fonte de recursos naturais devido a riquíssima diversidade química e biológica de compostos com potencial utilização tecnológica, a biotecnologia marinha busca extrair esses biomateriais e desenvolver novos produtos farmacêuticos, drogas, produtos químicos, enzimas e outros insumos e processos industriais, bem como fornecer avanços nas áreas de aquicultura e segurança de frutos do mar, diagnóstico de saúde, biomateriais, biorremediação e bioincrustação (THAKUR; THAKUR, 2006).

Podemos considerar tal missão como sendo um grande desafio, uma vez que alinhado a uma grande diversidade biológica, o fundo do mar concentra também a maior reunião de *habitats* adversos, com altas pressões hidrostáticas do mar profundo; comunidades de fontes hidrotermais; modificações abruptas de salinidade, correntes e temperaturas; e ainda poluentes, toxinas, ausência de luz e regiões inóspitas, tornando o oceano profundo o maior bioma da biosfera global e ao mesmo tempo o menos explorado (DANOVARO; SNELGROVE; TYLER, 2014; TOTTI *et al.*, 2020).

Para lidar com essa ambiciosa tarefa, esse ramo da ciência conta com uma série de ferramentas de análise e linhas de estudo que enriquecem e aceleram a aquisição de conhecimento advinda dos recursos marinhos, tais como bioprospecção, biologia molecular, fluorescência marinha, técnicas de imagem, engenharia genética, engenharia de bioprocessos, tecnologia de bioinformática, espectrometria de massas, genômica marinha, microbiologia, tecnologia transgênica e proteômica (KIM; VENKATESAN, 2015).

A biodiversidade presente no rico ecossistema marinho esboça um quadro que apresenta uma enorme quantidade de organismos que são estudados, como mamíferos marinhos, peixes, crustáceos e moluscos que possuem inúmeras estruturas corporais com presença de

substâncias bioativas; bancos de corais muitas vezes nunca estudados; cnidários, esponjas e algas com potencial aplicação biomédica; e microrganismos que são cada vez mais identificados como a fonte dos metabólitos secundários, que muitas vezes eram atribuídos a possíveis hospedeiros, como no caso dos micróbios simbióticos (ROCHA *et al.*, 2011; WIJFFELS, 2008; ARRIETA; ARNAUD-HAOND; DUARTE, 2010).

1.1.1 Compostos bioativos de organismos marinhos

A enorme gama de organismos encontrados no mar possibilita à biotecnologia marinha o estudo e extração de diversos compostos bioativos de importante utilização. Mamíferos marinhos, por exemplo, podem fornecer colágeno, substrato para o desenvolvimento celular, como o colágeno tipo I da baleia minke, *Balaenoptera acutorostrata*. Esse composto se mostrou adequado à aplicação cosmética e biomédica, além de proporcionar a engenharia de tecidos a produção de pele artificial ou cartilagem. As prostaglandinas, mediadores lipídicos, são outras substâncias relatadas em mamíferos marinhos onde atuam em uma grande variedade de processos fisiológicos e patológicos (ANDRE; MALAK; HUC, 2003; FELICIAN *et al.*, 2018; NAGAI; SUZUKI; NAGASHIMA, 2008; DI COSTANZO *et al.*, 2019).

Os peixes são os principais alvos da pesca industrial ou artesanal, nas mais diferentes escalas, o que gera uma grande quantidade de capturas acessórias ou de subprodutos, esses por sua vez, podem representar uma fonte de compostos bioativos de alto valor agregado, como proteínas, carboidratos, colágeno, ácidos graxos poliinsaturados, quitina, constituintes polifenólicos, carotenóides, vitaminas, alcalóides, tocoferóis, tocotrienóis, toxinas e lectinas (CARUSO *et al.*, 2020; DARA *et al.*, 2021). Para garantir a recuperação desses produtos de forma segura e eficiente a biotecnologia cada vez mais tem avançado com técnicas de extração verde, como a extração líquida pressurizada ou a filtração por membrana, aplicadas, por exemplo, a extração de óleo do fígado, além de proteína e gordura, no atum *Katsuwonus pelamis* e nos arenques *Clupea harengus membras* e *Clupea harengus*, respectivamente (BRUNO *et al.*, 2019; FANG *et al.*, 2018; NEĐZAREK *et al.*, 2017).

Do mesmo modo, crustáceos apresentam um enorme potencial como fornecedores dessas substâncias, principalmente presentes nos subprodutos sólidos como cascas e conchas. Astaxantina, peptídeos bioativos, quitina, lectinas e lipídeos são alguns exemplos de moléculas que vêm sendo extraídas desses organismos (AMADO *et al.*, 2016; CASTRO; GUERRERO-LEGARRETA; BÓRQUEZ, 2018; AHMADKELAYEH; HAWBOLDT, 2020; ZHANG *et al.*,

2019). Os moluscos são outro grupo potencialmente explorado, onde muitas espécies assemelham-se aos crustáceos quanto a presença de conchas; moléculas como ácidos graxos poli-insaturados, ômega-3, peptídeos bioativos, quitosana, colágenos e lectinas são algumas das substâncias relatadas em animais pertencentes a esse filo (PATHAK, 2020; EGHIANRUWA *et al.*, 2019; VARMA; VASUDEVAN, 2020; DAI, 2018; CHIKALOVETS *et al.*, 2017). Essas moléculas seguem enaltecendo o potencial de produção de novos medicamentos que esses organismos marinhos possuem, como é o caso das conotoxinas presentes em caracóis cone marinhos, como *Conus bayani*, que são ferramentas em pesquisas neurocientíficas e potenciais agentes terapêuticos (GAO *et al.*, 2017; PUSHAPABAI *et al.*, 2021).

Os invertebrados marinhos realmente possuem um papel importante nos estudos da biotecnologia marinha, no grupo de poríferos e cnidários já foram relatados a extração de poliacetilenos, terpenóides, alcalóides, peptídeos, derivados de ácidos graxos, compostos aromáticos, lectinas e toxinas (LEE; CHO; TRAN, 2021; BASHARI *et al.*, 2019; JAYATHILAKE; GUNATHILAKE, 2020; DE OLIVEIRA SOUSA *et al.*, 2021). Da mesma forma, equinodermos e platelmintos apresentaram compostos como polifenóis, resinas, pigmentos, glicosídeos, lectinas e lipídeos com muitas dessas possuindo potencial aplicação antibacteriana, antiinflamatória e antioxidante, bem como analgésica (HOU *et al.*, 2020; SADEK *et al.*, 2021; DAHMOUNE *et al.*, 2021; AL-NIAEEMI; DAWOOD, 2017; HATAKEYAMA *et al.*, 2020).

Outro grupo de destaque são os microrganismos marinhos, que vivem muitas vezes em comunidades simbióticas com outros organismos e são responsáveis por muitos metabolitos secundários geralmente relacionados a defesa dos hospedeiros, uma vez que são usados para sobreviver nas condições oceânicas hostis (ROMANO *et al.*, 2017; BARZKAR *et al.*, 2019). Essa característica, vincula a essas substâncias atividades biológicas como anticâncer, antiviral, antibacteriano, antifúngico, antiprotozoário, anti-helmíntico, anti-inflamatório, imunossupressor, neurodegenerativo, neuroprotetor, anti-incrustante (MEHBUB *et al.*, 2014) e produtos como antibióticos, hormônios de crescimento, compostos orgânicos voláteis, enzima anticâncer e lactonas (BIBI *et al.*, 2020; AMEEN *et al.*, 2020; DOBERVA *et al.*, 2017).

1.2 Algas marinhas

As algas marinhas constituem um grupo, estudado pela biotecnologia marinha, que possui características intrínsecas, como a diversidade de formas e tamanhos, apresentando organismos microscópicos como as cianobactérias, ou espécimes gigantes como as algas pardas

da divisão Laminariales, também conhecidas como *kelps*. Essa diversidade, pode ser observada tanto visualmente, quanto microscopicamente, com espécies unicelulares e multicelulares, e ainda nos *habitats* em que são encontradas, estendendo-se desde vida suspensa na coluna d'água ou por debaixo do gelo em regiões polares, até fixação no substrato úmido, arenoso ou rochoso (FRANCESCHINI *et al.*, 2009). Evolutivamente, o grupo possui espécies com linhagens distintas e, por vezes, distantemente relacionados, o que implica nessas aquisições independentes de multicelularidade que ajudam a entender também uma significativa diversidade de ciclos de vida, processos de fertilização e estratégias morfogenéticas (CHARRIER *et al.*, 2017).

Além da diversidade, as algas marinhas apresentam outras características que as colocam em evidência, como sua importante participação ecológica no ecossistema da Terra. Elas estão intimamente envolvidas como produtores primários, principalmente nas regiões costeiras, utilizando mecanismos de concentração de carbono. Além disso, são as principais responsáveis pela produção de oxigênio no planeta, costumadamente com eficiência maior do que as plantas terrestres, pelo processo de fotossíntese, no qual pode impactar na capacidade de tamponamento de carbono inorgânico dissolvido da água do mar, pois resulta no aumento do pH e uma queda na pressão parcial de CO₂ na água (BHOLA *et al.*, 2014; HAN *et al.*, 2017).

Elas são ainda ótimos indicadores de qualidade da água e das condições físico-químicas do local em que se encontram, além disso, servem como *habitat* e fonte de alimento para organismos associados (PEREIRA; NETO, 2014). As algas realmente são protagonistas importantíssimas dos oceanos, participando de inúmeros processos ecológicos e desempenhando papel fundamental neles, essa multiplicidade de funções atrelada a elas ressalta seu potencial de promovedor de biomoléculas ativas, envolvidas nos processos que elas participam ou são influenciadas.

Divididas a partir das muitas diferenças encontradas nas espécies, como morfologia, composição celular, ciclos de vida, modelos de reprodução, habitats e metabolitos, as algas encontradas nos oceanos são classificadas em azuis-esverdeadas (Cyanophyta), verdes (Chlorophyta), marrons (Phaeophyta) e vermelhas (Rhodophyta) (WAGHMODE, 2017).

A divisão Cyanophyta, compreende os organismos também conhecidos como cianobactérias, ou ainda algas azuis. Essas algas são microrganismos autotróficos capazes de realizar uma gama de funções, incluindo bioestabilizar o sedimento, regulação do ciclo bentônico-pelágico de nutrientes e produção primária (HAŠLER *et al.*, 2012). As Chlorophytas são as conhecidas algas verdes, possuindo como principal pigmento fotossintético a clorofila, que lhes propicia a coloração característica. Esse filo se assemelha muito a plantas terrestres, a

parede celular é constituída por um componente com estrutura fibrilar, geralmente celulose, que confere consistência e rigidez à própria parede (CORMACI; FURNARI; ALONGI, 2014).

Já o filo Phaeophyta compreende organismos chamados de algas marrons, ou ainda, pardas, são em sua maioria macroalgas marinhas que possuem essa cor como resultado das grandes quantidades do carotenóide fucoxantina, o que mascara outros pigmentos (ALI *et al.*, 2017). Essa linhagem eucariótica é um componente importante distribuído nas zonas litorâneas e sublitorais em ecossistemas temperados e subtropicais (LA BARRE *et al.*, 2010). O filo Rhodophyta, ou algas vermelhas, é o grupo mais rico em espécies entre as macroalgas, com grande diversidade de tamanhos, morfologia, e organização do talo. Essas algas, possuem presença abundante de pigmentos acessórios que constituem os ficobilissomas dispersos na superfície dos tilacóides, assim como nas algas pardas, esses pigmentos quase sempre mascaram a presença da clorofila (CORMACI; FURNARI; ALONGI, 2017).

1.2.1 Compostos isolados de algas marinhas

Biologicamente, as algas têm atendido às expectativas quanto ao seu enorme potencial de utilidade. Elas estão envolvidas na produção de alimentos, rações, biocombustíveis, hidrocolóides, fertilizantes, cosméticos, probióticos, embalagens biodegradáveis, suplementos alimentares, pigmentos, nutracêuticos e produtos farmacêuticos. Além disso, também são utilizadas como base para tratamento de águas residuais, recolonização do fundo mar, produção de bioenergia e biorrefinarias (CHARRIER *et al.*, 2017; LAURENS; CHEN-GLASSER; MCMILLAN, 2017; FABRIS *et al.*, 2020).

Entre as substâncias relatadas nesses organismos estão carboidratos, lipídios, proteínas, pigmentos; mais especificamente: ágar, carragenina, furcellaran, ácido algínico, alginatos, ficocolóides, spirulina, ácidos graxos essenciais e pigmentos úteis, como xantofila, clorofila e carotenóides (KOYANDE *et al.*, 2019; HOPPE, 2019). Entretanto, na contemporaneidade, as algas marinhas ainda são utilizadas para um número relativamente pequeno de aplicações industriais, estando ácidos graxos, esteróis, caratenóides, ficocolóides, compostos halogenados, policetídeos, toxinas e lectinas entre os compostos mais explorados (FABRIS *et al.*, 2020; CARDOZO *et al.*, 2007).

Especificamente, alguns compostos encontrados na divisão Cyanophyta, principalmente em espécies marinhas são: peptídeos, como gramistatinas A e B, veraguamidas K – L, almiramidas A – C (MI *et al.*, 2017); proteases, a exemplo de carmaficinas A e B (TAN; PHYO, 2020); policetídeos, tricoficina A e bastimolide A; e alcalóides, incluindo

laucisteinamida A, 12-epi-fischerindol I, hapalindol X e fischambiguines A e B (SHAH *et al.*, 2017). Tal quais as cianobactérias, as algas verdes apresentam uma gama de compostos de interesse biotecnológico, bem como: polissacarídeos sulfatados (THANH *et al.*, 2016); glicoproteínas (SENTHILKUMAR; JAYANTHI, 2016); polifenóis (COTAS *et al.*, 2020) e lectinas (CARNEIRO *et al.*, 2020).

O filo das Phaeophyceae possui polissacarídeos e terpenóides como moléculas bioativas consideradas promissoras para o estudo, além de já terem sido relatadas a capacidade antioxidante, anti-incrustante e antitumoral nesses organismos (ZUBIA *et al.*, 2009). Alginatos, polifenóis, polissacarídeos, peptídeos, ácidos graxos ômega-3, carotenóides, vitaminas e minerais são alguns dos compostos bioativos relatados em algas pardas (FLÓREZ-FERNÁNDEZ; DOMÍNGUEZ; TORRES, 2019; KADAM; TIWARI; O'DONNELL, 2015).

Dentre as diversas moléculas que vêm sendo extraídas das algas marinhas vermelhas estão: ácidos graxos (como ácidos graxos poliinsaturados e esteróis), terpenos (sesquiterpenóides e diterpenos cíclicos), pigmentos (ficobilinas, carotenóides, ficobiliproteínas, ficoeritrina e ficocianina), compostos fenólicos (bromofenol e ácidos benzóicos), polissacarídeos (ágar e carragenana) vitaminas, (vitamina E e vitamina B₁₂) e minerais como zinco (Zn) e manganês (Mn) e proteínas como, por exemplo, as lectinas (COTAS *et al.*, 2020).

Outrossim, também atribuído a esses organismos, é seu potencial de promover compostos bioativos com propriedades terapêuticas, o que contribui para embasar a elucidação de estudos e conhecimentos sobre eles. As algas marinhas são consideradas como bons reservatórios de moléculas com inúmeras atividades biológicas e biomédicas, devido à habitação desses organismos em comunidades aquáticas naturais, onde ocorre uma competição inibitória entre produtores e consumidores de um mesmo nicho (SHARMA; SHARMA, 2017). De fato, elas já demonstraram possuir compostos com propriedades anticâncer, antiobesidade, antidiabético, anti-hipertensivo, anti-hiperlipidêmico, antioxidante, anticoagulante, imunomodulador, antiestrogênico, estimulador da tireóide, neuroprotetor, propriedades antifúngicas, antibacterianas, cicatrização de tecidos, e mesmo antiviral e anti-inflamatório com potencial aplicação no desenvolvimento de fármacos e tratamentos contra COVID-19 (KHALID *et al.*, 2018; ROSALES-MENDOZA *et al.*, 2020).

Outra característica inerente às algas, principalmente quando comparado com a maioria dos outros organismos marinhos mencionados como alvos dos estudos biotecnológicos, é a potencialidade de cultivo e assim produção em massa de um composto vinculado a alguma espécie. Dessa forma, uma vez que um composto bioativo for descoberto em uma alga, essa tem a possibilidade de ser criada e possuir maior capacidade de gerar biomassa graças a sua

eficiência fotossintética, em comparação com os demais organismos cultivados (BENEDETTI *et al.*, 2018). Carboidratos, lipídios, proteínas, pigmentos, bem como uma variedade de metabólitos secundários comerciais são naturalmente e eficientemente produzidas por espécies de algas, contudo, são atualmente provenientes da agricultura convencional (KOYANDE *et al.*, 2019). Segundo FABRIS *et al.* (2020), nos últimos anos houve um grande número de pesquisas focadas na otimização das condições que promovem ao máximo as taxas de crescimento das algas ou induzem a produção aprimorada de um produto específico, sob condições artificiais de crescimento, como as macroalgas marinhas *Chaetomorpha linum* (GE; CHAMPAGNE, 2017), *Sargassum fusiforme* (BUCK *et al.*, 2017) e *Macrocystis pyrifera* (PANAHI *et al.*, 2019).

1.2.2 Filo Rhodophyta

O filo Rhodophyta, popularmente conhecido como algas vermelhas, compreende um grupo de organismos majoritariamente pluricelulares e morfologicamente muito diversos, contendo mais de 7.000 espécies, a maioria delas marinha. Dessa forma, podemos encontrar representantes desse filo desde a zona entre-marés até águas profundas. Esse grupo, que é um dos mais antigos de algas eucarióticas com uma longa história fóssil com evidências de espécies com 1,2 bilhão de anos, foi capaz de competir com sucesso nessa zona oceânica, que possui entre outras adversidades, exposição a temperaturas com flutuação diária e sazonal, altos níveis de irradiância, rigoroso estresse osmótico e dessecação. Essa resistência destaca seu potencial de possuir biomateriais biotecnologicamente importantes na sua composição, pois à concorrência inibitória em um ambiente dinâmico e severo pode promover a obtenção de moléculas bioativas nos organismos (YOON *et al.*, 2017; BRAWLEY *et al.*, 2017).

Nessa perspectiva, essa aquisição de compostos com atividades biológicas ao longo do tempo, concede a esse conjunto de algas potencial para ser um dos principais grupos na obtenção de substâncias naturais no futuro (COTAS *et al.*, 2020). No grupo das Rhodophytas quatro espécies/gêneros são intensamente cultivadas para fins biotecnológicos, principalmente para a indústria de hidrocolóides e alimentos, *Porphyra* spp., *Eucheuma* spp., *Kappaphycus alvarezii* e *Gracilaria* spp., compreendendo cerca de 18,5 mil toneladas no ano de 2016 (FERDOUSE, *et al.*, 2018).

1.2.2.1 Tribo Amansieae

A tribo *Amansieae* representante das algas vermelhas, da família *Rhodomelaceae*, é comum em *habitats* marinhos intertidais e subtidais em ambientes tropicais e temperados, abrange nove gêneros distribuídos em aproximadamente 60 espécies, e apresentando aspecto morfológicamente plástico (SHERWOOD; KURIHARA; CONKLIN, 2011; GUIRY; GUIRY, 2021). Essa tribo possui membros com potencial biotecnológico já conhecido e estudado, a exemplo de atividades: anti-inflamatória, antiviral, antioxidante, anticancerígena, anticoagulante e antiangiogênico (MESQUITA *et al.*, 2021; GONDIM *et al.*, 2019; ZUBIA, 2019; GUTIÉRREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018; DE SOUZA *et al.*, 2012a).

1.2.2.1.1 *Osmundaria obtusiloba*

Osmundaria obtusiloba é uma alga marinha vermelha, pertencente à tribo *Amansieae*, amplamente distribuída em ambientes tropicais e temperados, caracterizando-se por possuir os pigmentos fotossintetizantes ficoeritrina e ficocianina. Morfológicamente, apresenta talo ereto, em tufos, vermelho-vináceas, apresentando apressório discóide de onde surgem ramos, inicialmente cilíndricos dos quais originam outros em forma de fita, com a ramagem principal exibindo nervura central evidente até a região mediana de onde partem veias laterais dispostas de forma alternada até o ápice dos ramos laterais achatados, geralmente originando râmulos serrados (FIGURA 1) (AGARDH, 1863; GEYER, 2018).

Figura 1 – *Osmundaria obtusiloba*.



Fonte: Autor.

Em 1991, Norris apresentou uma revisão taxonômica para aquela que anteriormente era denominada *Vidalia obtusiloba*, baseado em estruturas vegetativas e reprodutivas, concluindo que o gênero *Vidalia* deveria ser sinônimo de *Osmundaria*, pois não encontrou características ou diferenças anatômicas suficientes para a manutenção de ambos os gêneros (NORRIS, 1991). No Brasil, ela pode ser encontrada em praticamente todo litoral nordeste e sudeste nas regiões entre-marés. Outra característica significativa dessa espécie, é o desprendimento de forte pigmentação vermelho-vinácea, característica essa não observada em outros membros da tribo *Amansieae* (GEYER, 2018).

O. obtusiloba vem se destacando biotecnologicamente, tendo sido encontrado compostos, como ácidos graxos (ALENCAR *et al.*, 2018); compostos fenólicos (DE ALENCAR *et al.*, 2016); bromofenóis sulfatados (CARVALHO; GUIMARÃES; ROQUE, 2006) que apresentaram atividade anti-inflamatória contra o veneno da abelha (WIEMER; IDLER; FENICAL, 1991); aminoácidos neuroexcitatórios, como ácido cainico e ácido domóico; e ainda pigmento floridorubina, que pode ser uma característica taxonômica da tribo *Amansieae* (PEIXINHO; KINOSHITA; OLIVEIRA FILHO, 1973).

Seja ligada à algum composto ou ao extrato algal, *O. obtusiloba* já demonstrou possuir atividade antiviral, contra HSV-1 e HSV-2 (DE SOUZA *et al.*, 2012b), vírus Chikungunya, CHIKV (CIRNE-SANTOS *et al.*, 2019), vírus Zika, ZIKV (CIRNE-SANTOS *et al.*, 2018); potencial atividade antioxidante (DE ALENCAR *et al.*, 2016); anti-leishmania (LIRA *et al.*, 2016), e também foi capaz de sintetizar nanopartículas de ouro (ROJAS-PEREZ *et al.*, 2015), essas atividades fomentam o interesse biotecnológico na espécie.

1.3 Lectinas

Lectinas são proteínas que se ligam a carboidratos de forma reversível e específica, porém não estão envolvidas na catálise ou síntese dos mesmos, além de não pertencerem as principais classes de imunoglobulinas (KILPATRICK, 2000). Em 1954, Boyd e Shapleigh propuseram a primeira definição para essas macromoléculas, como sendo proteínas que se ligam reversivelmente a carboidratos, aglutinam células e/ou precipitam polissacarídeos e glicoconjugados.

Inicialmente, foram denominadas como fitohemaglutininas ou fitoaglutininas devido a capacidade que possuem de aglutinar eritrócitos ter sido observada em extratos de plantas. No entanto, tais proteínas foram sendo descobertas em outros organismos, como fungos, algas, animais e vírus, e hoje, sabe-se que elas são onipresentes (SHARON; LIS, 2004;

SAMPAIO; ROGERS; BARWELL, 1998). Essas moléculas já foram isoladas e descritas em plantas (ALSALOOM, 2021), fungos (MUKHAMMADIEV *et al.*, 2021), bactérias (ALYOUSEF; ALQASIM; ALOAHD, 2017), algas (MESQUITA *et al.*, 2021), moluscos (HE *et al.*, 2020), poríferos (CARNEIRO *et al.*, 2019), cnidários (IMAMICHI; YOKOYAMA, 2010), platelmintos (PANG *et al.*, 2012), nematódeos (HARCUS *et al.*, 2009), anelídeos (MOLCHANOVA *et al.*, 2007), artrópodes (ELAYABHARATHI; MARY; BAI, 2020), equinodermos (ARAVINDAKSHAN; NAREDDY; KUMAR, 2017) e cordados (RUBEENA *et al.*, 2019), o que demonstra não só a presença dessas moléculas em todos os organismos vivos, como também a capacidade dos métodos de purificação e isolamento de serem aplicáveis a uma enorme gama de lectinas oriundas de habitats, organismos e estruturas corporais diferentes.

O termo lectina (do latim *legere*, escolher, selecionar, optar) foi empregado pela capacidade das aglutininas vegetais de se ligar a mono- e oligossacarídeos, e assim interagir com diversas moléculas dos fluidos biológicos e receptores de superfície celular, dessa forma distinguindo eritrócitos de diferentes tipos sanguíneos (SELL, 2000; BOYD; SHAPLEIGH, 1954). O termo foi proposto para representar todas as aglutininas específicas de açúcar de origem não imune, sendo primeiramente utilizado para designar lectinas vegetais, como a concanavalina A do feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), primeira hemaglutinina obtida de forma pura em 1919; e depois para proteínas de ligação a carboidratos de origem animal, como no caso da lectina encontrada no veneno de cobra, responsável pela primeira hemaglutinação causada por esse grupo de moléculas (LAM; NG, 2011; KILPATRICK, 2000; SHARON; LIS, 2004).

Duas descobertas na década de 1960 foram responsáveis por trazer notoriedade a essas moléculas, primeiramente descobriu-se a capacidade mitogênica sobre linfócitos, até então consideradas células indivisíveis ou incapazes de diferenciar-se, que a lectina PHA (*Phaseolus vulgaris agglutinin*) do feijão vermelho possuía (NOWELL, 1960). Posteriormente, a lectina WGA (*wheat germ agglutinin*) de gérmen de trigo, mostrou-se capaz de aglutinar células malignas, o que deu início a utilização de lectinas para o estudo contra câncer (AUB; SANFORD; COTE, 1965).

Acrescenta-se a essas descobertas, a introdução, a partir de 1965, da cromatografia de afinidade e do advento de técnicas recombinantes na década de 1980, processos responsáveis por facilitar o isolamento e assim aumentar rapidamente o número dessas proteínas purificadas (SHARON, 2008; SHARON; LIS, 2004). A partir desses achados, o interesse por desenvolver protocolos de purificação, técnicas de caracterização bioquímica e estrutural, e ainda estudos para elucidar os papéis fisiológicos de lectinas se ampliou e perdura até os dias atuais.

1.3.1 Potencial biotecnológico de lectinas

Lectinas são moléculas com alto potencial biotecnológico, uma vez que são capazes de interagir com moléculas de superfície celular, substituir ligantes naturais e ativar células (SELL, 2000). Essa característica de agente biológico promissor está evidente desde os primeiros estudos de definição desse conjunto de proteínas, como no caso da estimulação mitogênica de linfócitos proposta em 1960. Desde então, outras inúmeras atividades vêm sendo vinculadas as lectinas: indução de células supressoras, citotoxicidade de linfócitos e macrófagos, mediação de fagocitose de células alvo, atividade insulino-mimética, transporte de drogas, papel na adesão celular, entre outras (NOWELL, 1960; LIENER, 2012).

Elas também estão no grupo de substâncias que tiveram seu estudo ampliado devido ao seu grande potencial biotecnológico no âmbito da saúde, uma vez que experimentalmente se observa muito suas funções atreladas a defesa dos organismos, mesmo não sendo essa uma característica obrigatória. De fato, inicialmente presumia-se que as ações das hemaglutininas vegetais eram análogas às reações de anticorpos por causa de suas especificidades nos eritrócitos, toda via, como não são catalíticos nem imunes de origem não podem ser considerados como anticorpos (LANDSTEINER, 1962).

Contudo, são inúmeros os estudos descrevendo aplicações biomédicas e terapêuticas de lectinas. Realmente, essas proteínas já foram sugeridas como substâncias de defesa inata ao sistema imunológico de vertebrados e invertebrados, atuando muitas vezes como linha primária de defesa do hospedeiro contra certos agentes infecciosos (TAKAHASHI; EZEKOWITZ, 2005).

Já foram observadas ligadas à lectinas atividades como anti-inseto (SINGH *et al.*, 2006), antifúngica (NABETA *et al.*, 2021), anti-hiperglicêmica (DE ALENCAR ALVES *et al.*, 2020), anticâncer (HUNG; TRINH, 2021), antitumoral (SAAD *et al.*, 2020), antibacteriana (BJARNASON; MAGNUSDOTTIR, 2021), anti-inflamatória (LIU *et al.*, 2019), antinociceptiva (RAMOS *et al.*, 2020) e antiviral (EL-MARADNY *et al.*, 2021), como contra o vírus da batata Y (BILAL *et al.*, 2020), da bronquite infecciosa (ZHANG *et al.*, 2017), do HIV (LEE, 2019), HSV-II (LUO *et al.*, 2007) e contra o vírus SARS-CoV-2, responsável pela pandemia global de COVID-19 (SOHRAB *et al.*, 2020; SHEEHAN *et al.*, 2020).

1.3.2 Lectinas de algas marinhas

Lectinas de algas marinhas, de modo geral, são consideradas proteínas monoméricas de baixo peso molecular, exibindo alto teor de aminoácidos ácidos, não dependendo de cátions divalentes para a manutenção de sua atividade hemaglutinante, a qual é inibida por carboidratos complexos e glicoproteínas, o que demonstra sua afinidade por essas moléculas (HORI; MIYASAWA, ITO, 1990; ROGERS; HORI, 1993; MISHRA *et al.*, 2019).

A primeira vez que foi observado atividade hemaglutinante em algas marinhas foi em 1966, quando dentre 24 extratos testados, seis extratos de algas pardas e um de cianobactéria aglutinaram eritrócitos dos grupos sanguíneos A e O, um extrato de alga verde e dois de algas pardas aglutinaram eritrócitos de todos os grupos testados, e um extrato de alga vermelha aglutinou apenas eritrócitos humanos do grupo A (BOYD; ALMODÓVAR; BOYD, 1966).

Ao longo do tempo, estima-se que 60% dos extratos de espécies de algas analisados exibiram atividade hemaglutinante. No entanto, existe a possibilidade de o número de espécies positivas ser maior considerando as limitações na detecção, quer seja por variedades de eritrócitos usados nos testes ou uso de tratamento enzimático nessas células, com enzimas proteolíticas, principalmente nos primeiros trabalhos (NAGANO; SANZ; CALVETE, 2011).

Deveras, já se há o entendimento de que os tratamentos enzimáticos podem causar incrementos na atividade hemaglutinante graças a remoção de compostos na superfície celular tornando acessíveis carboidratos e glicoproteínas. Do mesmo modo, também se sabe que extratos de algas possuem atividade mais efetiva por eritrócitos de coelhos (LIS; SHARON, 1986; HORI; MIYAZAWA; ITO, 1981).

A cromatografia de afinidade, técnica que utiliza as propriedades físico-químicas e a interação biológica específica em uma grande variedade de sistemas proteína-ligante para realizar a separação das misturas, é o método mais empregado para a purificação de lectinas, visto que a ligação específica entre a lectina e a matriz torna esta cromatografia a mais eficiente para isolamentos em um único passo.

Em lectinas, é geralmente observada a utilização da cromatografia de troca iônica juntamente com a cromatografia de afinidade. Essa por sua vez, utiliza a capacidade de se manipular a carga elétrica de moléculas ionizáveis, ou seja, gera afinidade e a eluição com a modificação da carga elétrica da molécula, o que é bastante benéfico para o isolamento de proteínas, pois os aminoácidos possuem a característica de conter tanto grupos químicos positivos quanto negativamente carregados. Para lectinas de algas, a cromatografia de afinidade e de troca iônica são as estratégias de purificação mais comumente utilizadas, em conjunto com a precipitação com sulfato de amônio, que promove a precipitação de moléculas devido a uma

redução na solubilidade decorrente do efeito “*salting-out*” ou da combinação com o efeito “*salting-in*” (NASCIMENTO *et al.*, 2012).

As lectinas de algas podem ser divididas em três categorias principais de lectinas: específicas de *N*-glicano de tipo complexo, lectinas específicas de *N*-glicano com alto teor de manose e em lectinas com ambas as especificidades, tanto de *N*-glicano de tipo complexo, quanto com alto teor de manose (HORI; MIYASAWA, ITO, 1990; ROGERS; HORI, 1993).

1.3.2.1 Lectinas de algas marinhas vermelhas

Grande parte das lectinas de algas foram isoladas de algas vermelhas, representando mais de 60% das lectinas isoladas (SINGH; THAKUR; BANSAL, 2015). A lectina da alga *Ptilota plumosa* foi a primeira lectina desses organismos purificada e caracterizada parcialmente (ROGERS; BLUNDEN; EVANS, 1977). Assim como são desse grupo, as primeiras lectinas a ter sua estrutura primária elucidada, como as lectinas isoladas das algas *Bryothamnion triquetrum* e *Hypnea japonica* (CALVETE *et al.*, 2000; HORI *et al.*, 2000).

Essas proteínas de algas vermelhas, em geral, compartilham as mesmas características já descritas de formas monoméricas com baixo peso molecular, apresentando termo estabilidade, afinidade por glicoproteínas e hemaglutinação não dependente de cátions divalentes (HORI; MIYAZAWA; ITO, 1990; ROGERS; HORI, 1993). Contudo, essa tendência de apresentar especificidade de carboidratos para glicoproteínas complexas ou *N*-glicanos com alto teor de manose, rende para essas lectinas de algas, o promissor potencial de uso biomédico, principalmente na inibição de doenças virais, pois a propriedade de reconhecimento de glicanos, a interação lectina-glicano, desencadeia muitas respostas bioquímicas (SINGH; WALIA, 2018; BARRE *et al.*, 2020).

1.3.2.1.1 Potencial biomédico de lectinas de algas marinhas vermelhas

Muitas lectinas de algas vermelhas foram relatadas apresentando aplicações biomédicas ou potencial para tal, como no caso de SfL de *Solieria filiformis* que possui atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e antidepressiva testadas em camundongos, além de atividade anticâncer em células de câncer de mama MCF-7, e atividade contra bactérias patogênicas humanas (ABREU *et al.*, 2016; ABREU *et al.*, 2018; CHAVES *et al.*, 2018a; HOLANDA *et al.*, 2005).

Já a lectina isolada de *Amansia multifida* apresentou propriedades anti-inflamatórias, atividade antiviral, efeitos antinociceptivos e induziu a migração de neutrófilos (MESQUITA *et al.*, 2021; NEVES *et al.*, 2007; NEVES *et al.*, 2001; GONDIM *et al.*, 2019). As isolectinas de *Bryothamnion seaforthii* mostraram atividade anti-hiperglicêmica, antioxidante, efeito pró-cicatrizante e capacidade de diferenciar células de carcinoma do cólon humano (DE ALENCAR ALVES *et al.*, 2020; GONZAGA DO NASCIMENTO-NETO *et al.*, 2012; PINTO *et al.*, 2009).

Essas mesmas proteínas encontradas em *Bryothamnion triquetrum* demonstraram atividade anti-inflamatória, anti-hiperglicêmica e antioxidante, também possuem capacidade de diferenciar células de carcinoma do cólon humano, e também foram capazes de inibir a aderência estreptocócica (FONTENELLE *et al.*, 2018; ALVES, 2015; PINTO *et al.*, 2009; TEIXEIRA *et al.*, 2007).

A lectina mais amplamente investigada e conseqüentemente que apresentou maior potencial biotecnológico foi *griffithsin*, GRFT, de *Griffithsia* sp. (MORI *et al.*, 2005). Ela evidencia-se como uma lectina antiviral de amplo espectro capaz de atuar contra vários vírus, como HIV (O'KEEFE *et al.*, 2009), HCV (MEULEMAN *et al.*, 2011), HSV e HPV (DERBY *et al.*, 2018), vírus Ebola (BARTON *et al.*, 2014); MERS-CoV (MILLET *et al.*, 2016); SARS-CoV (O'KEEFE *et al.*, 2010) e mais recentemente têm apresentado resultados positivos contra SARS-CoV-2 (ALSAIDI *et al.*, 2021).

1.3.2.1.2 Lectinas de algas marinhas vermelhas como agentes antivirais

A capacidade das lectinas de reconhecer e se ligar especificamente a moléculas glicosiladas é justamente a responsável por lhes conferir a função de agente antiviral. Como anteriormente citado, existe uma ampla gama de lectinas de algas vermelhas que possuem essa capacidade de ligação e inativação da ação de vírus, bloqueando as estruturas de glicanos presentes na superfície desses agentes infecciosos (MAZALOVSKA; KOUOKAM, 2018).

Atualmente, enfrentamos a pandemia de COVID-19, causada pela síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2), o que evidencia ainda mais a busca por agentes antivirais, como as lectinas (ALSAIDI *et al.*, 2021). Esses vírus entram nas células-alvo pela ligação de suas proteínas de pico de superfície, proteína spike (S), à enzima conversora de angiotensina humana 2 (ACE2). Essas proteínas S são glicoproteínas altamente conservadas, com algumas posições de glicano preservadas e outras únicas (HOFFMANN *et al.*, 2020; VANKADARI; WILCE, 2020; WALLS *et al.*, 2020).

Dessa forma, é provável que haja uma reação cruzada entre lectinas e a proteína S, realizando o reconhecimento e assim inativando a entrada de SARS-CoV-2, impedindo assim a ligação com ACE2 (CAPELL *et al.*, 2020).

As lectinas *griffithsin* de *Griffithsia* sp; ASL – 1 e ASL – 2 de *Agardhiella subulata*; EDA – 2 e ESA – 2 de *Euclima denticulatum*; KAA – 2 de *Kappaphycus alvarezii*; KSA – 2 de *Kappaphycus striatum*; MEL de *Meristiella echinocarpa*; MPA – 1 e MPA – 2 de *Meristotheca papulosa*, e Sfl – 1 e Sfl – 2 de *Soliera filiformis* são lectinas de algas vermelhas reconhecidas como possuidoras de andaimes estruturais capazes de reconhecer as proteínas de pico de coronavírus (BARRE *et al.*, 2021).

Dessa forma, *O. obtusiloba*, espécie alvo do presente trabalho, se apresenta promissora, pois além dessa característica inerente das lectinas, de ligação a carboidratos, ela já demonstrou possuir potencial antiviral (DE SOUZA *et al.*, 2012b; CIRNE-SANTOS *et al.*, 2019; CIRNE-SANTOS *et al.*, 2018), o que reforça a necessidade da elucidação das características estruturais das moléculas presentes em espécies como ela.

1.4 Caracterização estrutural de lectinas

De maneira geral, os estudos sobre lectinas se debruçam no objetivo de identificar a presença da molécula em um organismo, isolá-lo e posteriormente caracterizar sua estrutura, sua especificidade de ligação a carboidratos, os aminoácidos que interagem com os açúcares e seus papéis biológicos nos organismos. Ou seja, a aquisição de informações bioquímicas e estruturais sobre as lectinas de algas é um dos focos primordiais e primários para que suas classificações funcionais e filogenéticas sejam determinadas (NAGANO *et al.*, 2005a).

Apesar do potencial já demonstrado das lectinas isoladas de algas marinhas, com diversas atividades biológicas, incluindo atividades anticâncer, anti-HIV, antibacteriana e contra o coronavírus, poucos estudos estruturais têm sido realizados sobre estas proteínas. Dessa forma, ainda são poucas as informações disponíveis sobre suas características estruturais.

1.4.1 Estrutura primária de lectinas de algas

Entre as lectinas de algas isoladas e com estrutura primária determinada, a maioria pertence as algas vermelhas, com 26 lectinas descritas em 19 espécies (TABELA 1).

Tabela 1 – Lectinas de algas vermelhas com estrutura primária determinada (Continua).

Espécie	Lectina	Metodologia	Especificidade	Referência
<i>Aglaothamnion callophyllidicola</i>	Rhodobindin	Clonagem de cDNA	Fetuina e Asialofetuina	HAN <i>et al.</i> , 2015
<i>Aglaothamnion oosumienses</i>	AOL-1	Clonagem de cDNA	<i>N</i> -acetil galactosamina (GalNAc)	HAN <i>et al.</i> , 2012
<i>Amansia multifida</i>	AML	Clonagem de cDNA	Manana de levedura	SILVA, 2016
<i>Bryothamnion seaforthii</i>	BSHV	Degradação de Edman e MS	Fetuina, Avidina e Mucina	MEDINA-RAMIREZ <i>et al.</i> , 2007
<i>Bryothamnion seaforthii</i>	BSL-2	MS/MS	Fetuina, Avidina e Mucina	GONZAGA DO NASCIMENTO-NETO <i>et al.</i> , 2012
	BSL-3			
	BSL-4			
<i>Bryothamnion triquetrum</i>	BTL	Degradação de Edman e MS	Fetuina e Mucina	CALVETE <i>et al.</i> , 2000
<i>Eucheuma denticulatum</i>	EDA-2	Clonagem de cDNA	<i>N</i> -glicanos ricos em manose	HUNG <i>et al.</i> , 2015
<i>Eucheuma serra</i>	ESA-2	Degradação de Edman	<i>N</i> -glicanos ricos em manose	HORI <i>et al.</i> , 2007
<i>Gelidium amansii</i>	GAL	Clonagem de cDNA	N.D.	MASSI; AHMAD, 2012
<i>Gracilaria fisheri</i>	GFL	Clonagem de cDNA	N.D.	SUTTISRISUNG <i>et al.</i> , 2011
<i>Grateloupia chiangii</i>	GCL	Degradação de Edman e LC-MS / MS	D-manose	HWANG <i>et al.</i> , 2020
<i>Grifthisin sp.</i>	GRFT	Degradação de Edman e MS	Manose e <i>N</i> -acetil D-glicosamina (GlcNAc)	MORI <i>et al.</i> , 2005
<i>Hypnea cervicornis</i>	HCA	Degradação de Edman e MS/MS	Mucina	NAGANO <i>et al.</i> , 2005a
<i>Hypnea japonica</i>	Hypnin A-1 Hypnin A-2 Hypnin A-3	Degradação de Edman	Transferrina, Fetuina e α 1-glicoproteína acida e suas formas desializadas	HORI; MATSUBARA; MIYASAWA, 2000; OKUYAMA <i>et al.</i> , 2009
<i>Hypnea musciformis</i>	HML	Degradação de Edman e MS/MS	Mucina	NAGANO <i>et al.</i> , 2005a

Tabela 1 – Lectinas de algas vermelhas com estrutura primária determinada (Conclusão).

Espécie	Lectina	Metodologia	Especificidade	Referência
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	KAA-1	Clonagem de cDNA	<i>N</i> -glicanos ricos em manose	HIRAYAMA et al, 2016
	KAA-2			
<i>Kappaphycus striatum</i>	KSA-2	Clonagem de cDNA	<i>N</i> -glicanos ricos em manose	HIRAYAMA; LY; HORI, 2015
<i>Kappaphycus striatus</i>	KSL	Clonagem de cDNA	Manana de levedura	HUNG; TRINH, 2021
<i>Meristiella echinocarpa</i>	MEL	Clonagem de cDNA e MS/MS	Manana de levedura	CHAVES <i>et al.</i> , 2018a
<i>Solieria filiformis</i>	SfL-1	Degradação de Edman; Clonagem de cDNA e MS/MS	<i>N</i> -glicanos ricos em manose	CHAVES <i>et al.</i> , 2018b
	SfL-2			

Fonte: Autor. MS: espectrometria de massas. MS/MS: espectrometria de massa em tandem. LC-MS/MS: cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas. N.D.: não determinado.

Essa preocupação com a determinação das propriedades moleculares das lectinas para esclarecer suas possíveis atividades biológicas foi intensificada a partir da década de 1970, durante a qual as propriedades físico-químicas, sequências de aminoácidos e estruturas tridimensionais das lectinas foram gradualmente desvendadas e elucidadas (SHARON; LIS, 2004). A concanavalina A, além de primeira hemaglutinina obtida de forma pura foi também a primeira a ter a sequência primária estabelecida em 1972, colocando as lectinas de plantas como pioneiras mais uma vez (EDELMAN *et al.*, 1972).

Em algas, a primeira espécie a ter uma lectina com estrutura primária determinada foi *Nostoc ellipsoforum*, pertencente as cianobactérias, com a cianovirina-N (GUSTAFSON *et al.*, 1997). No entanto, com relação a macroalgas, as primeiras lectinas a terem suas estruturas primárias elucidadas, foram as lectinas BTL e as Hypnin A-1 e Hypnin A-2 isoladas das algas *Bryothamnion triquetrum* e *Hypnea japonica* por Calvete *et al.* (2000) e Hori *et al.* (2000), respectivamente, ambas pertencentes ao grupo das Rhodophytas.

Como aponta HWANG *et al.* (2020), a estrutura primária de lectina de algas vermelhas contribui para a produção dessas proteínas de forma recombinante, e por sua vez, essa tecnologia contribui para elucidar a atividade da lectina. Para definir essa etapa da caracterização estrutural, as principais técnicas que vêm evidenciando-se são a espectrometria de massas (CALVETE *et al.*, 2000), degradação de Edman (HORI; MATSUBARA; MIYASAWA, 2000) e a clonagem molecular (MASSI; AHMAD, 2012).

Desde a década de 90 a espectrometria de massas complementa a degradação de Edman, e hoje emerge como o principal método para sequenciamento de peptídeos, por possuir

uma série de características vantajosas, como a possibilidade de acoplamento de dois ou mais analisadores de massa e a introdução de técnicas de ionização branda capaz de gerar íons peptídicos intactos que fornecem informações de peso molecular altamente precisas que são muito importantes para a identificação e caracterização de proteínas (SEIDLER *et al.*, 2010; TRAUGER; WEBB; SIUZDAK, 2002). As fontes de ionização frequentemente empregadas em MS aplicadas à análise de proteínas e peptídeos são a ionização por Electrospray ou ESI (YAMASHITA; FENN, 1984) e MALDI (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization*) (KARAS; BACHMANN; HILLENKAMP, 1985).

O surgimento de técnicas como a espectrometria de massas, potencializa os estudos de lectinas, principalmente de organismos como as algas, pois geralmente o rendimento na purificação dessas proteínas é baixo (NAGANO *et al.*, 2005b), necessitando assim de técnicas analíticas muito sensíveis. Propriedade essa, cuja espectrometria é capaz de fornecer, como na espectrometria sequencial que proporciona a sensibilidade a picogramas de composto. Devido a essas dificuldades no processo de isolamento, é comum a determinação parcial da estrutura primária de lectinas de algas ser documentada, como no caso de HFL de *Hizikia fusiformis* (WU *et al.*, 2016).

2 OBJETIVO

Objetivo geral

Purificar e caracterizar bioquimicamente e estruturalmente, uma lectina extraída da alga marinha vermelha *Osmundaria obtusiloba*.

Objetivos específicos

- Estimar a massa molecular da lectina por SDS-PAGE em condições redutoras e não redutoras.
- Estimar a massa molecular nativa da proteína por gel filtração.
- Determinar a faixa ótima de pH da lectina.
- Avaliar a dependência por íons divalentes para a manutenção da atividade hemaglutinante da proteína.
- Estabelecer a especificidade por carboidratos e glicoproteínas da lectina.
- Determinar a massa molecular da lectina através de espectrometria de massas (ESI-MS).
- Determinar a estrutura primária parcial da lectina através de espectrometria de massas (MS/MS).

3 METODOLOGIA

3.1 Purificação da lectina

3.1.1 Coleta do material biológico

Espécimes da alga marinha vermelha *Osmundaria obtusiloba* foram coletados na zona infralitoral durante as marés baixas de sizígia nas praias do Pacheco e da Pedra Rachada, localizadas nos municípios de Caucaia e Paracuru, Ceará, respectivamente. Todas as coletas e acesso ao patrimônio genético de organismos marinhos foram autorizados e regulados pelos órgãos ambientais competentes através de registros no SISBIO (Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade, ID: 33913-8) e SISGEN (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado, ID: AC14AF9). Após a coleta dos exemplares, os mesmos foram transportados dentro de sacos plásticos em caixas térmicas até o laboratório onde foram armazenados a – 20 °C para uso posterior.

3.1.2 Preparação do extrato proteico

Para extração de proteínas, os exemplares foram lavados, triturados com nitrogênio líquido até a obtenção de um pó fino e em seguida, suspenso em tampão Tris-HCl 20 mM, pH 7,5; contendo CaCl₂ 5 mM (TB de extração) sob agitação por 16 h a 4 °C (OLIVEIRA *et al.*, 2002). O extrato foi filtrado em tecido de nylon, em seguida foi centrifugado a 8.000 x g a 4°C por 30 minutos e o sobrenadante, denominado extrato bruto, foi utilizado para determinação do teor de proteínas solúveis através do método de Bradford (1976) e atividade hemaglutinante.

3.1.3 Ensaio de hemaglutinação

Os ensaios de atividade hemaglutinante foram realizados utilizando eritrócitos humanos do sistema ABO, obtidos no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) e eritrócitos de coelhos mantidos no Setor de Cunicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará. Os testes foram realizados com eritrócitos humanos e de coelhos tratados e não tratados com as enzimas tripsina e pronase, seguindo o método da dupla diluição seriada, em placas de microtitulação de fundo em V, segundo a metodologia padrão (SAMPAIO *et al.*, 2002).

3.1.4 Isolamento da lectina

Para o isolamento da lectina foi seguido o protocolo já estabelecido por Melo *et al.* (2004), onde o extrato bruto foi submetido inicialmente à uma precipitação com sulfato de amônio a 60% de saturação e o precipitado solubilizado em tampão de extração. A fração 0-60% foi então dialisada e seguiu para cromatografia de troca iônica em coluna de DEAE-Celulose previamente equilibrada com o tampão de extração. As frações retidas foram eluídas com Tris 20 mM, pH 7,5; contendo NaCl 500 mM e CaCl₂ 5 mM (TB/Ca²⁺), e foram submetidas à cromatografia de afinidade em coluna de Goma de Guar, novamente equilibrada com TB/Ca²⁺. As frações adsorvidas na Goma de Guar foram eluídas com tampão Glicina 100 mM, pH 2,6; contendo 150 mM de NaCl, compreendendo a lectina isolada.

3.1.5 Avaliação da pureza da lectina

O grau de pureza da proteína alvo foi avaliado nas diferentes etapas de isolamento através de eletroforese em gel de poliacrilamida de 12% na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), corado com *Coomassie* Brilliant Blue, com e sem redução da amostra com β-mercaptoetanol a 100 °C durante 5 minutos (LAEMMLI, 1970).

3.2 Estimativa da massa molecular

A massa molecular da lectina foi estimada por SDS-PAGE, por meio da correlação da migração da proteína no gel com a migração dos marcadores moleculares de massa molecular conhecida, em condições redutoras e não redutoras.

A massa molecular nativa da lectina foi estimada também por cromatografia de gel filtração em uma coluna BioSuite HR 250, 5 μm acoplada ao sistema H-Class Bio UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*, Waters Corp.), utilizando proteínas de massa molecular conhecida tiroglobulina bovina (669 kDa), apoferritina, 443 (kDa), β-amilase (220 kDa), álcool desidrogenase (150 kDa), albumina sérica bovina (66 kDa), anidrase carbônica (29 kDa) e lisozima (14 kDa) como padrão de eluição.

3.3 Inibição da atividade hemaglutinante

Para a inibição da atividade hemaglutinante foram utilizados carboidratos e glicoproteínas, segundo a metodologia previamente estabelecida (SAMPAIO *et al.*, 2002). A proteína purificada foi submetida a um teste de inibição da atividade hemaglutinante, para que a especificidade da proteína alvo fosse determinada. Os carboidratos utilizados foram: D-xilose, D-ribose, L-fucose, L-arabinose, L-ramnose, D-galactose (Gal), D-manose, D-glicose (Glc), D-glucosamina, D-galactosamina, *N*-acetil-D-glucosamina (GlcNAc), *N*-acetil-D-galactosamina (GalNAc), ácido D-galacturônico, D-frutose, D-sacarose, D-melibiose, α -D-lactose, D-lactulose, D-maltose, D-rafinose, metil- α -D-galactopiranosídeo, metil- β -D-galactopiranosídeo, metil- β -D-tiogalactose, fenil- β -D-galactopiranosídeo, 4-nitrofenil- α -D-galactopiranosídeo, 2-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo, α -metil-manosídeo, lactulose, β -lactose, sacarose, fenil- β -D-galactose, *N*-acetil-D-manosamina, transferrina humana, asilofetuína bovina, tiroglobulina suína, mucina de estômago de porco tipo 2 (PSM-II) e mucina de estômago de porco tipo 3 (PSM-III), mucina submaxilar bovina (BSM) e fetuína bovina.

3.4 Caracterização físico-química da lectina

O efeito de íons divalentes na atividade hemaglutinante foi avaliado através da presença de CaCl₂ e EDTA durante os testes de atividade hemaglutinante.

Para avaliar a estabilidade da proteína frente a variações de pH, a lectina (1 mg.mL⁻¹) foi solubilizada em NaCl 0,15 M e diluída em tampões de diferentes pH (acetado de sódio 100 mM, pH 4 e pH 5, fosfato de sódio 100 mM, pH 6, tris 100 mM, pH 7 e pH 8, glicina 100 mM, pH 9 e pH 10, todos contendo NaCl 0,15 M), posteriormente a atividade hemaglutinante foi avaliada.

3.5 Determinação da estrutura primária

3.5.1 Determinação da massa intacta

A massa molecular média da lectina foi determinada por ESI-MS (Ionização por Electrospray - Espectrometria de massas), conforme descrito por Carneiro *et al.* 2017. Uma solução da lectina (10 pMol.uL⁻¹) foi infundida em uma fonte de ionização do tipo eletrospray acoplada a um espectrômetro de massas Synapt HDMS (Waters). O espectrômetro operou em modo positivo e foi calibrado com ácido fosfórico na faixa de 100 a 1500 *m/z*. Os dados obtidos

foram coletados, processados e deconvoluídos com o pacote de software MassLynx 4.1.

3.5.2 Determinação da sequência de aminoácidos por espectrometria de massas (MS/MS)

3.5.2.1 Digestão da lectina com enzimas proteolíticas em gel

Para a determinação da sequência de aminoácidos por espectrometria de massas (MS/MS), a lectina purificada foi submetida à eletroforese em gel de poliacrilamida/dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) de 12% corado com Coomassie Brilliant Blue (LAEMMLI, 1970). As bandas foram excisadas e descoradas segundo o protocolo previamente estabelecido (SHEVCHENKO *et al.*, 2007).

As bandas eletroforéticas descorados da proteína seguiram para digestão com a enzima proteolítica tripsina. As digestões foram realizadas em bicarbonato de amônio 25 mM a 1:50 p/p (enzima/substrato), mantidas a 37 °C por 18 horas. A digestão foi interrompida com adição de 2 µL de ácido fórmico a 2%. Os peptídeos resultantes foram extraídos do gel conforme Shevchenko *et al.* (2007).

3.5.2.2 Sequenciamento dos peptídeos obtidos por digestão

As soluções contendo-os foram injetadas em uma coluna de fase reversa BEH-C18 (100 µm x 100 mm) em um sistema nanoAcquity (Waters Corporation, MA, EUA) e eluídos por gradiente linear de acetonitrila, contendo 0,1% de ácido fórmico. Os eluatos foram infundidos diretamente em uma fonte de nanoelectrospray no espectrômetro de massas (nESI-LC/MS).

O espectrômetro de massas operou em modo positivo na faixa de 50 a 3000 *m/z*, sob voltagem do capilar de 3,5 kV e temperatura da fonte de 363 K. As análises de LC-MS/MS foram conduzidas de acordo com a função DDA (*Data Dependent Analysis* – Análise Dependente de Dados), sendo selecionados para análise de MS/MS íons precursores com carga (*z*) entre 2+ e 4+, onde foram fragmentados por Dissociação Induzida por Colisão (CID), utilizando argônio como gás de fragmentação.

3.5.2.3 Análise dos dados

Para a análise de dados os espectros coletados foram processados pelos programas

MassLynx v4.1 e ProteinLynx v2.4 (Waters Corporation). Os espectros de fragmentação interpretados manualmente pelo uso da ferramenta PepSeq (Waters).

3.5.2.4 Análise dos peptídeos sequenciados

A similaridade de sequência com proteínas conhecidas foi avaliada online (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) usando o BLASTp com o banco de dados disponível no National Center for Biotechnology Information (NCBI) (MADDEN, 2002).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Purificação da lectina

A lectina, presente na alga marinha vermelha *Osmundaria obtusiloba*, denominada OOL (*Osmundaria obtusiloba* lectin) foi isolada seguindo o protocolo de purificação já estabelecido por Melo e colaboradores, 2004. A purificação de OOL ocorreu por meio da combinação de precipitação com sulfato de amônio a 60% de saturação e das cromatografias de troca iônica e afinidade.

O fracionamento com sulfato de amônio, empregado como primeira etapa de purificação de OOL, é um dos métodos mais comuns de precipitação de proteínas, utilizado tanto em escala de bancada quanto em escala industrial. Como ressaltam Englard e Seifter (1990), a remoção de proteínas que facilmente agregam daquelas que são muito solúveis, que o efeito “*salting out*” promove, torna essa técnica uma boa etapa de purificação inicial para pequenas proteínas solúveis.

Lectinas como as de *Bryophyllum pinnatum* (DEVI *et al.*, 2021) e *Auricularia auricula* (LIU *et al.*, 2021) são exemplos da utilização da técnica como um dos primeiros passos de purificação. As lectinas das algas *Tichocarpus crinitus*, TCL (MOLCHANOVA *et al.*, 2010); *Gracilaria ornata*, GOL (LEITE *et al.*, 2005); *Hypnea musciformis*, HML (NAGANO *et al.*, 2002) e *Solieria filiformis*, SfL (BENEVIDES; LEITE; FREITAS, 1996) são exemplos do emprego desse método de precipitação, uma vez que essas moléculas descritas em algas têm justamente essa característica de pequenas massas e podem facilmente ser isoladas usando esse passo no processo de isolamento.

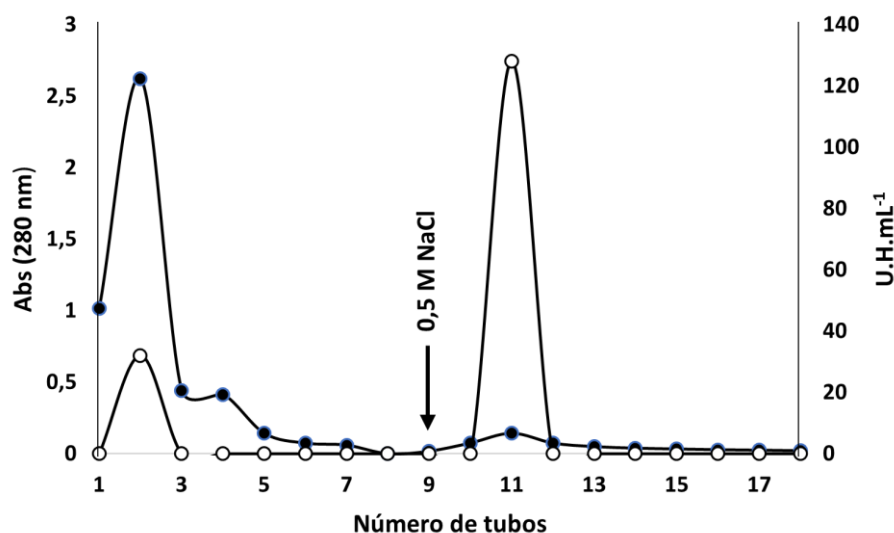
A utilização da precipitação com sais é uma etapa de purificação, geralmente não suficiente, pois uma de suas deficiências é que os contaminantes, frequentemente presentes, precipitam com a proteína de interesse, necessitando de outros passos para obter uma amostra de proteína pura, como a cromatografia de troca iônica (DUONG-LY; GABELLI, 2014).

4.1.1 Cromatografia de troca iônica

A fração 0-60% dialisada seguiu para cromatografia de troca iônica em matriz de DEAE-Celulose (FIGURA 2) as frações foram monitoradas a 280 nm e mediante atividade hemaglutinante. O pico retido (P2D) foi eluído com adição de NaCl 0,5 M e encerrou a atividade hemaglutinante. As frações foram reunidas dialisadas e liofilizadas e utilizadas para

uma nova etapa de purificação.

Figura 2 – Cromatografia de troca iônica em coluna de DEAE-Celulose.



Fonte: Autor. A coluna (2 cm x 2,8 cm) foi equilibrada e lavada com Tris-HCl 20 mM, pH 7,5; contendo CaCl₂ 5 mM. As frações retidas foram eluídas com Tris 20 mM, pH 7,5; contendo NaCl 500 mM e CaCl₂ 5 mM (TB/Ca²⁺). A cromatografia foi conduzida com fluxo de 2 mL.min⁻¹ e frações de 2,5 mL foram coletadas. O eixo secundário indica a atividade hemaglutinante dos picos. (●—●) absorvância a 280 nm (○—○) atividade hemaglutinante (U.H.mL⁻¹).

A cromatografia de troca iônica (DEAE) é comumente observada nos processos de purificação de lectinas de organismos marinhos, sendo um processo eficiente de isolamento, a lectina de *Gracilaria ornata*, GOL (LEITE *et al.*, 2005); *Hizikia fusiformis*, HFL (WU *et al.*, 2016), *Halimeda renshii*, HRL40 (MU *et al.*, 2017) e mais recentemente *Gracilaria canaliculata*, GCL (TRANG, 2021) foram isoladas tendo a cromatografia de troca iônica DEAE no processo de purificação.

Além disso, a aplicação da técnica na purificação de OOL beneficia-se da retirada de pigmentos, que auxilia sua utilização nos passos iniciais de purificação, principalmente em algas vermelhas (SINGH; WALIA, 2018). Como relata GEYER (2018), *O. obtusiloba* apresenta forte desprendimento de pigmentação em estudos laboratoriais em comparação a outras espécies da mesma tribo, essa característica foi atestada ao longo do presente estudo.

Para remediar esse entrave, foram empregadas técnicas de precipitação de pigmentos, como a acidificação, no entanto não obtivemos êxito na remoção dos possíveis contaminantes, o que ressalta a utilização da cromatografia de troca iônica antecedendo a afinidade, já que os pigmentos geralmente interferem nas etapas cromatográficas subsequentes, podem danificar o sistema de cromatografia de afinidade e/ou exclusão molecular, e prejudicar a purificação, visto que podem impedir a capacidade de ligação da lectina ao adsorvente de

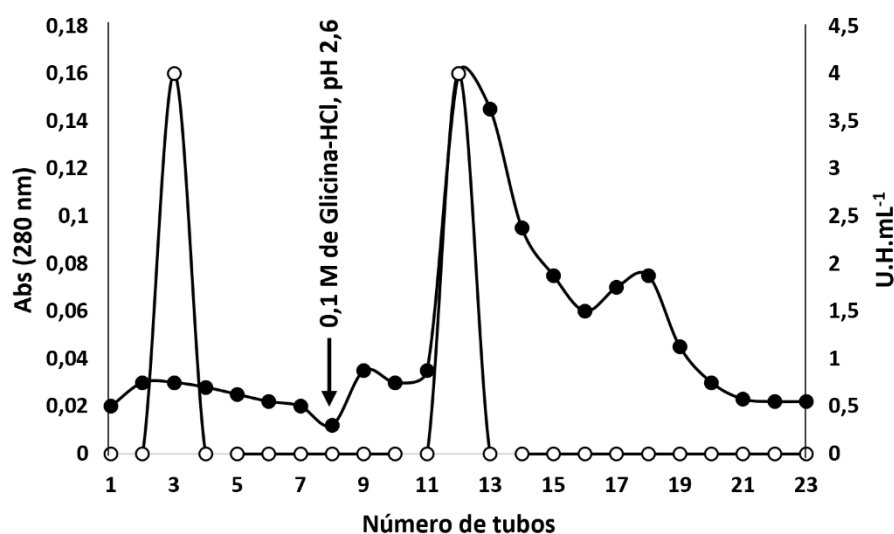
afinidade (NASCIMENTO *et al.*, 2006; DE SANTANA *et al.*, 2008; SURYA; HARIDAS, 2018).

A Dietilaminoetil celulose (DEAE-C) é uma resina positivamente carregada, ou seja, um trocador aniônico, escolhido quando se quer utilizar um tampão com pH maior que o ponto isoelétrico (pI) da proteína de interesse, sugerindo que o pI de OOL seja menor que o pH utilizado no protocolo adotado (< 7,5). Dessa forma, estando em conformidade com a literatura, que ressalta que em geral, o pI de lectinas de algas vermelhas está na faixa de 4 – 6, assim como, *Tichocarpus crinitus*, TCL (MOLCHANOVA *et al.*, 2010); *Aglaothamnion oosumiense*, AOL – 1 (HAN *et al.*, 2012) e *Amansia multifida*, AML (MESQUITA *et al.*, 2021). Já as lectinas CcL de *Caulerpa cupressoides* (DE QUEIROZ *et al.*, 2016); *Hizikia fusiformis*, HFL (WU *et al.*, 2016); BSL de *Bryothamnion seaforthii* (GONZAGA DO NASCIMENTO-NETO *et al.*, 2012) e PcL de *Pterocliadiella capillacea* (OLIVEIRA *et al.*, 2002) são exemplos da aplicação da matriz de DEAE-Celulose no processo de purificação.

4.1.2 Cromatografia de afinidade

A purificação foi concluída através da cromatografia de afinidade em matriz de Goma de guar (FIGURA 3). O pico adsorvido foi eluído com Glicina 0,1 M e corresponde à lectina já isolada, denominada OOL (MELO *et al.*, 2004).

Figura 3 – Cromatografia de afinidade em matriz de Goma de guar.



Fonte: Autor. A coluna (2 cm x 4,8 cm) foi equilibrada e lavada com Tris-HCl 20 mM, pH 7,5; contendo CaCl₂ 5 mM. As frações retidas foram eluídas com tampão Glicina 100 mM, pH 2,6; contendo 150 mM de NaCl. A cromatografia foi conduzida com fluxo de 0,5 mL.min⁻¹, e as frações de 2,5 mL foram coletadas. O eixo secundário indica a atividade hemaglutinante dos picos. (●—●) absorvância a 280 nm (○—○) atividade hemaglutinante (U.H.mL⁻¹).

Em conjunto com o fracionamento com sulfato de amônio e a cromatografia de troca iônica, a cromatografia de afinidade em matriz de Goma de guar foi usada como última etapa da purificação da OOL. A cromatografia de afinidade é a método mais escolhido para purificação de lectinas, graças a ligação específica entre a lectina e a matriz, principalmente em passo único, seguido pela precipitação com sulfato de amônio, como revela NASCIMENTO *et al.* (2012), que ainda observa que processos que contêm uma etapa de afinidade obtêm maiores rendimentos de recuperação e fator de purificação em comparação aos que não utilizam etapa semelhante. Lectinas de *Grateloupia chiangii* (HWANG *et al.*, 2020); *Bryopsis plumosa* (HAN *et al.*, 2011); *Georgiella confluens* (SOUZA *et al.*, 2010) e *Ptilota plumosa* (SAMPAIO *et al.*, 2002) foram isoladas com auxílio da cromatografia de afinidade.

A utilização dessa técnica é antiga e pode ter diferentes focos no trato com proteínas. Podemos observar sua utilidade em processos como, concentração de soluções diluídas de proteínas, na remoção de formas desnaturadas de uma proteína purificada e na separação e resolução de componentes de proteína resultantes de modificações químicas específicas de proteínas purificadas (CUATRECASAS; ANFINSEN, 1971). A Goma de guar tem como principal componente o guar galactomanano, que é um composto de galactosil ligado (α 1-6) à estrutura da manose, e é um conjugado de afinidade, atestado como um polissacarídeo capaz de precipitar lectinas específicas a galactose, o que sugere a especificidade de OOL (TYAGI; AGARWAL; GUPTA, 1996; CARNEIRO *et al.*, 2017). Muitas lectinas de algas, assim como OOL, demonstram esse tipo de afinidade, consequentemente fazem uso da coluna de Goma de guar, tais como: *Ptilota serrata* (SAMPAIO *et al.*, 1998); *Pterocladella capillacea* (OLIVEIRA *et al.*, 2002); *Hizikia fusiformis* (WU *et al.*, 2016) e *Spirogyra* spp. (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

4.2 Caracterização bioquímica

4.2.1 Atividade hemaglutinante

O extrato bruto da alga marinha *O. obtusiloba* foi testado contra eritrócitos humanos do sistema ABO e eritrócitos de coelhos, onde apresentou atividade hemaglutinante contra os eritrócitos de coelho, nativos e tratados com enzimas proteolíticas (TABELA 2). A Fração 0/60 apresentou incremento da atividade hemaglutinante. As frações não retidas e retidas a coluna,

tanto da cromatografia de troca iônica, quanto da cromatografia de afinidade apresentaram atividade hemaglutinante contra eritrócitos de coelho nativo (TABELA 3).

Tabela 2 – Atividade hemaglutinante do extrato bruto da alga *Osmundaria obtusiloba*.

Eritrócitos	Nativo	Tratamento enzimático	
		Pronase	Tripsina
A	–	–	–
O	–	–	–
Coelho	+	+	+

Fonte: Autor. Os eritrócitos testados foram: humano tipo A, tipo O e coelho, nativos e tratados com pronase e tripsina.

Tabela 3 – Atividade hemaglutinante das etapas de purificação de OOL com eritrócitos de coelho (nativo).

Amostra	(U.H./mL ⁻¹).
Ext. BT	64
Prec.	256
P1D	32
P2D	128
P1G	4
OOL	4

Fonte: Autor. Ext. BT: extrato bruto. Prec.: Precipitado 0-60% com sulfato de amônio. P1D: pico não retido em matriz DEAE. P2D: pico retido em matriz DEAE. P1G: pico não retido em matriz Goma de guar. OOL: *Osmundaria obtusiloba* lectin.

Apesar do título de hemaglutinação igual no P1 da cromatografia de afinidade e no P2, OOL foi considerada e posteriormente atestada como isolada no P2, seguindo o que foi realizado por Melo *et al.* (2004).

No entanto, os resultados encontrados nesse trabalho diferem dos encontrados em 2004, onde a lectina exibiu preferência por eritrócitos do grupo O, tratados com bromelaína, seguido por eritrócitos do grupo A e depois coelho. Neste caso, a lectina purificada (OOL) não apresentou aglutinação para o sangue O e A, apresentando padrão de aglutinação como no extrato bruto, aglutinando eritrócitos de coelho nativo, mas não para os tratados com as enzimas pronase e tripsina (TABELA 4).

O extrato bruto de *Osmundaria obtusiloba* apresentou atividade hemaglutinante contra eritrócitos de coelho, nativos e tratados com enzimas proteolíticas. Esses eritrócitos quando maduros têm pelo menos sete proteínas principais com pesos moleculares variando de

Tabela 4 – Atividade hemaglutinante da OOL com eritrócitos de coelho, nativos e tratados com enzimas proteolíticas (U.H./mL⁻¹).

Eritrócitos	Nativo	Tratamento enzimático	
		Pronase	Tripsina
Coelho	4	–	–

Fonte: Autor.

23 a 250 kDa, mas não possuem as principais sialoglicoproteínas e outras glicoproteínas que são detectadas em eritrócitos humanos. A maioria das lectinas de algas vermelhas segue esse padrão de aglutinação com preferência por eritrócitos de coelho (SINGH; WALIA, 2018; LIGHT; TANNER, 1977), como a lectina de *Gracilaria firma* que foi capaz de aglutinar eritrócitos de coelho, mas nenhuma das amostras de sangue humano (SAN PASCUAL *et al.*, 2017). Contudo, OOL apresentou preferência apenas por eritrócitos nativos, diferentemente das lectinas de *Carpopeltis flabellata* (HORI *et al.*, 1987); *Hypnea musciformis* (NAGANO *et al.*, 2002); *Boodlea coacta*; *Hypnea japonica* e *Solieria robusta* (HORI; MIYAZAWA; ITO, 1990) que após a purificação, mantinham a aglutinação tanto por eritrócitos nativos de coelho, quanto para os tratados com enzimas proteolíticas.

O tratamento de eritrócitos com enzimas proteolíticas é um procedimento que comumente expõe resíduos de carboidratos inicialmente inacessíveis, sendo assim muitas lectinas apresentam maior especificidade por hemácias tratadas (SAMPAIO; ROGERS; BARWELL, 1998). Além disso, as enzimas clivam as proteínas que podem impedir a ligação das lectinas aos carboidratos presentes na superfície celular da hemácia (NAGANO *et al.*, 2002), assim como, durante a clivagem pode ocorrer a perda de algum carboidrato ligado à proteína clivada e assim diminuir a aglutinação da lectina. Dessa forma, a atividade de OOL apenas por eritrócitos nativos de coelhos deve ser, em parte, como resultado da presença do alto teor de 9-O-acetil neuramínico nos glicoconjugados de superfície de eritrócitos desse animal (DENIS *et al.*, 2003).

4.2.2 Inibição da atividade hemaglutinante

A atividade hemaglutinante da OOL foi inibida por manana, transferrina, asialofetuína e tiroglobulina (TABELA 5).

Tabela 5 – Inibição da atividade hemaglutinante (Continua).

Carboidrato	Inibição (mM)
Fenil-β-D-galactopiranosídeo	NI

Tabela 5 – Inibição da atividade hemaglutinante (Conclusão).

Carboidrato	Inibição
Metil- α -D-galactopiranosídeo	NI
4-nitrofenil- α -D-galactopiranosídeo	NI
Metil- β -D-galactopiranosídeo	NI
2-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo	NI
α -metil-manosídeo	NI
α -lactose monohidratada	NI
L-fucose	NI
L-arabinose	NI
Melibiose	NI
L-ramnose	NI
Lactulose	NI
D-galactose (Gal)	NI
Ácido D-galacturônico	NI
D-manose	NI
D-glucosamina	NI
Mucina de estômago de porco tipo 2 (PSM-II)	NI
Mucina de estômago de porco tipo 3 (PSM-III)	NI
Metil- β -D-tiogalactose	NI
<i>N</i> -acetil-D-glucosamina (GlcNAc)	NI
D-galactosamina	NI
D-glicose	NI
D-rafinose	NI
D-frutose	NI
β -lactose	NI
D-ribose	NI
Sacarose	NI
D-xilose	NI
D-maltose	NI
Fenil- β -D-galactose	NI
<i>N</i> -acetil-D-galactosamina (GalNAc)	NI
<i>N</i> -acetil-D-manosamina	NI
Fetuína bovina	NI
Manana de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1 mg. mL ⁻¹
Mucina submaxilar bovina (BSM)	NI
Transferrina humana	1 mg. mL ⁻¹
Asilofetuína bovina	1 mg. mL ⁻¹
Tiroglobulina suína	1 mg. mL ⁻¹

Fonte: Autor. NI: Não inibiu a uma concentração de 50 mM ou 1 mg. mL⁻¹.

OOL seguiu o padrão de lectinas de algas marinhas de inibição por carboidratos complexos ou glicoproteínas (HORI; MIYASAWA, ITO, 1990; ROGERS; HORI, 1993). A lectina não foi inibida por nenhum monossacarídeo testado, mas sua atividade hemaglutinante foi inibida pela manana de *Saccharomyces cerevisiae*, um polissacarídeo de armazenamento presente em sua parede celular, que consiste de uma estrutura linear ligada a $\alpha(1-6)$, cadeias laterais de unidades de manose ligadas a $\alpha(1-2)$ e $\alpha(1-3)$ (SINGH; SINGH; ARYA, 2018). Essa

especificidade, concorda e adequa-se a afinidade estabelecida em sua purificação, pela matriz de goma de guar, à qual também possui ligações à estrutura da manose. Inibição semelhante à de OOL, por manana de levedura, foi observada nas lectinas de algas vermelhas MEL de *Meristiella echinocarpum* (CHAVES *et al.*, 2018a) e KSL *Kappaphycus striatus* (HUNG; TRINH, 2021).

A lectina de *O. obtusiloba* também foi inibida pelas glicoproteínas tiroglobulina suína, asilofetuina e transferrina humana, todos os quais, junto com a manana de levedura, possuem *N*-glicanos do tipo manose nas moléculas (SATO; HORI, 2011). Estes resultados sugerem que OOL pode ter afinidade específica para *N*-glicanos de alta manose. Em 2016, Hirayama *et al.* descreveu um padrão de inibição bastante similar para as lectinas recombinantes (His-rKAA-1 e rKAA-1) e para KAA-1 e KAA-2 nativas, de ligação preferencial por glicoproteínas contendo *N*-glicanos do tipo de alta manose. Esse tipo de afinidade é comum em lectinas de algas marinhas e é uma das características que enfatiza o potencial biomédico dessas moléculas, sendo recorrente em lectinas desses organismos que apresentam potencial inibição de doenças virais (SINGH; WALIA, 2018; BARRE *et al.*, 2020).

Em contraste, a lectina purificada por Melo *et al.*, 2004 foi inibida por açúcares simples, sendo a substância inibidora mais potente a *N*-acetilgalactosamina. Sua descrição também apresenta a inibição pela D-galactose e outros derivados (α -lactose e D-galactosamina) e foi fortemente inibida pela mucina do estômago do porco.

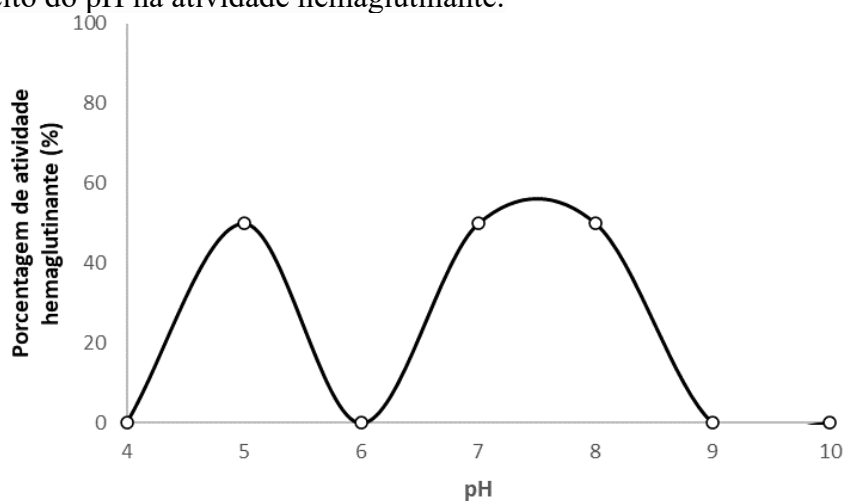
4.3 Caracterização físico-química

4.3.1 Efeito de pH

A atividade hemaglutinante da OOL foi observada no pH 5, 7 e 8 (FIGURA 4).

A atividade hemaglutinante da lectina foi observada no pH 5, 7 e 8, sendo mais estável no pH 7. Essa característica, de exibir atividade próxima à faixa de pH neutro (6-8) já foi relatada para lectinas de algas vermelhas, a lectina TCL de *Tichocarpus crinitus* (MOLCHANOVA *et al.*, 2010), assim como OOL, apresenta atividade hemaglutinante máxima entre o pH 7 e 8, reduzindo fora desses valores e sendo irreversivelmente inativada no pH 4 e 10. Já a lectina de *Acrocystis nana* (ANAM *et al.*, 2017), têm como pico de atividade o pH 6 e 7.

Figura 4 – Efeito do pH na atividade hemaglutinante.



Fonte: Autor.

4.3.2 Efeitos de íons divalentes

Ao avaliar o efeito da presença e ausência de íons divalentes na atividade hemaglutinante foi observado que a lectina apresentou dependência de cátions divalentes, constatado com o aumento da atividade hemaglutinante pela adição de cloreto de cálcio. (TABELA 6).

Tabela 6 – Teste de dependência de cátions divalentes da OOL.

Solução	U.H.mL ⁻¹
EDTA	16
CaCl ₂	128

Fonte: Autor. Foram utilizados eritrócitos de coelho.

O EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), é um agente quelante, ou seja, forma complexo com íons metálicos, dessa forma, uma vez que o EDTA diminuiu a atividade hemaglutinante ao capturar os íons de cálcio, significa que OOL depende dessa ligação para manter a hemaglutinação mais estável.

Muitos estudos demonstraram que as lectinas são proteínas dependentes de cátions divalentes, pois entre outros motivos, os íons metálicos divalentes ajudam a manter a conformação da lectina e estabilizar os resíduos de aminoácidos em locais específicos de ligação da cadeia lateral do açúcar e aumentar a atividade de hemaglutinação (KABIR *et al.*, 2019). No entanto, essa característica não é comum em lectinas oriundas de algas. De fato, em

geral as lectinas de algas vermelhas não necessitam de cátions divalentes para a manutenção da sua atividade hemaglutinante (SINGH; WALIA, 2018). Contudo, assim como OOL, podemos observar em *Ptilota filicina* (SAMPAIO; ROGERS; BARWELL, 1998) e *Enantiocladia duperreyi* (BENEVIDES *et al.*, 1998) algas vermelhas que possuem lectinas que não seguem esse padrão, apresentando dependência de íons metálicos divalentes. Essa característica de OOL apresenta conformidade com o obtido por Melo *et al.* (2004), onde a lectina encontrada dependia de íons divalentes para sua atividade.

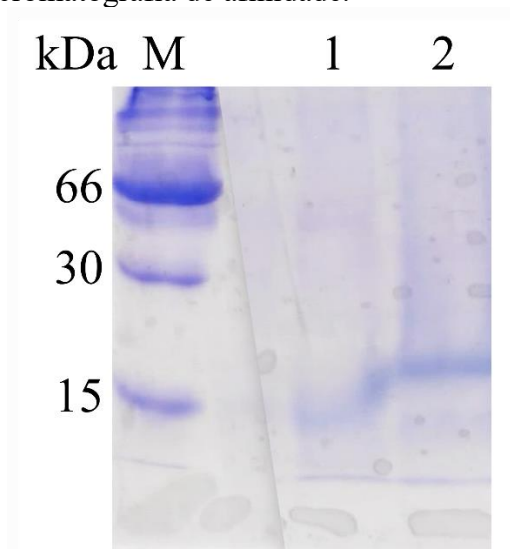
4.4 Caracterização estrutural

4.4.1 Estimativa da massa molecular

4.4.1.1 Estimativa da massa molecular por eletroforese

Em SDS-PAGE, OOL apresentou uma única banda de massa molecular estimada em 15 kDa, na ausência de 2-mercaptoetanol, e em condições redutoras apresentou massa de 20,2 kDa (FIGURA 5).

Figura 5 – SDS-PAGE da cromatografia de afinidade.



Fonte: Autor. M: marcador molecular (HSA – 66 kDa; rSfL – 30 kDa; CCL – 15 kDa). 1: OOL na ausência de β -mercaptoetanol. 2: OOL na presença de β -mercaptoetanol.

Conforme observado em SDS-PAGE, a OOL apresentou uma única banda de massa molecular estimada em 15 kDa, na ausência de 2-mercaptoetanol, e em condições redutoras apresentou massa de 20,2 kDa, indicando uma possível presença de pontes de

dissulfetos intramoleculares, que pode ser evidenciado por essa massa superior em condições redutoras (HORI; MATSUBARA; MIYAZAWA, 2000). A adição de 2-mercaptoetanol quebra as pontes dissulfeto, essa quebra favorece uma expansão da proteína que altera sua migração no gel. Essa característica também é observada em CAL de *Craniella australiensis* (XIONG *et al.*, 2006). A presença de pontes de dissulfeto, principalmente com alta especificidade por carboidratos complexos já é conhecida em lectinas de algas, e confere a elas mais estabilidade molecular quando comparada as de plantas terrestres superiores (NAGANO *et al.*, 2005a).

Em 2004, a lectina purificada por Melo *et al.* apareceu como uma única banda em SDS-PAGE, na ausência de 2-mercaptoetanol, e duas bandas em SDS-PAGE na presença de 2-mercaptoetanol correspondendo a pesos moleculares de 59,6 e 15,2 kDa. Em condições redutoras, há uma discrepância entre essa proteína em comparação com OOL, que apareceu em banda única.

A maioria das lectinas isoladas de algas marinhas são proteínas de baixo peso molecular (ROGERS; HORI, 1993), com o menor valor relatado para as lectinas da alga vermelha *Bryothamnion triquetrum* (Gmelin) Howe e *B. Seaforthii* (Turner) Kützing, com valores de 3,5 e 4,5 kDa, respectivamente (AINOUZ *et al.*, 1995). Assim como OOL, as lectinas de *Ptilota plumosa*, 17,4 kDa (SAMPAIO *et al.*, 2002); *Enantiocladia duperreyi*, 16 kDa (BENEVIDES *et al.*, 1998) e *Gracilaria ornata*, 17 kDa (LEITE *et al.*, 2005) também possuem massa molecular baixa entre 10 e 20 kDa.

4.4.1.2 Estimativa da massa molecular nativa por exclusão molecular

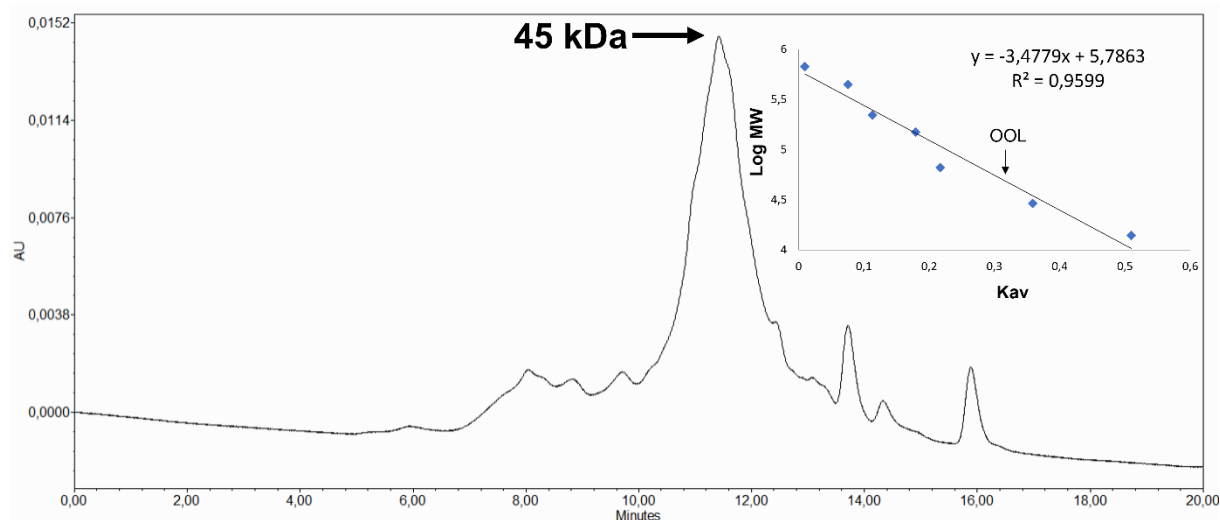
Na cromatografia de exclusão molecular em coluna BioSuite HR 250 (5 μ m) acoplada ao sistema H-Class Bio UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*, Waters Corp.), OOL apresentou massa molecular estimada de aproximadamente 45 kDa (FIGURA 6).

Em cromatografia de exclusão molecular, OOL apresentou uma massa molecular estimada em 45 kDa, sugerindo que a proteína consiste de um trímero formado por três subunidades idênticas, ao lembrar que em SDS-PAGE a massa molecular foi estimada em 15 kDa. Geralmente, lectinas de algas são monoméricas (ROGERS; HORI, 1993). No entanto, OOL não seguiu esse padrão, assim como lectinas de *Ptilota filicina* (SAMPAIO; ROGERS; BARWELL, 1998) e *P. serrata* (SAMPAIO *et al.*, 1998) que, também, possuem estruturas triméricas.

Melo *et al.* (2004), também relatou que a lectina que não possui a característica de monomérica. Contudo, em contraste com OOL, ela foi descrita como um dímero com

subunidades diferenciadas. Dessa forma, apesar de trabalharmos em prol de isolar a mesma proteína obtida de forma pura no início dos anos 2000 por Melo *et al.* e posteriormente darmos continuidade aos estudos estruturais dessa molécula, de potencial futuro promissor, encontramos demasiadas discordâncias em nossos dados. Assim sendo, embora tenhamos adotado o mesmo protocolo desse autor, os resultados sugerem se tratar de lectinas distintas.

Figura 6 – Estimativa da massa molecular nativa de OOL por cromatografia de exclusão molecular.

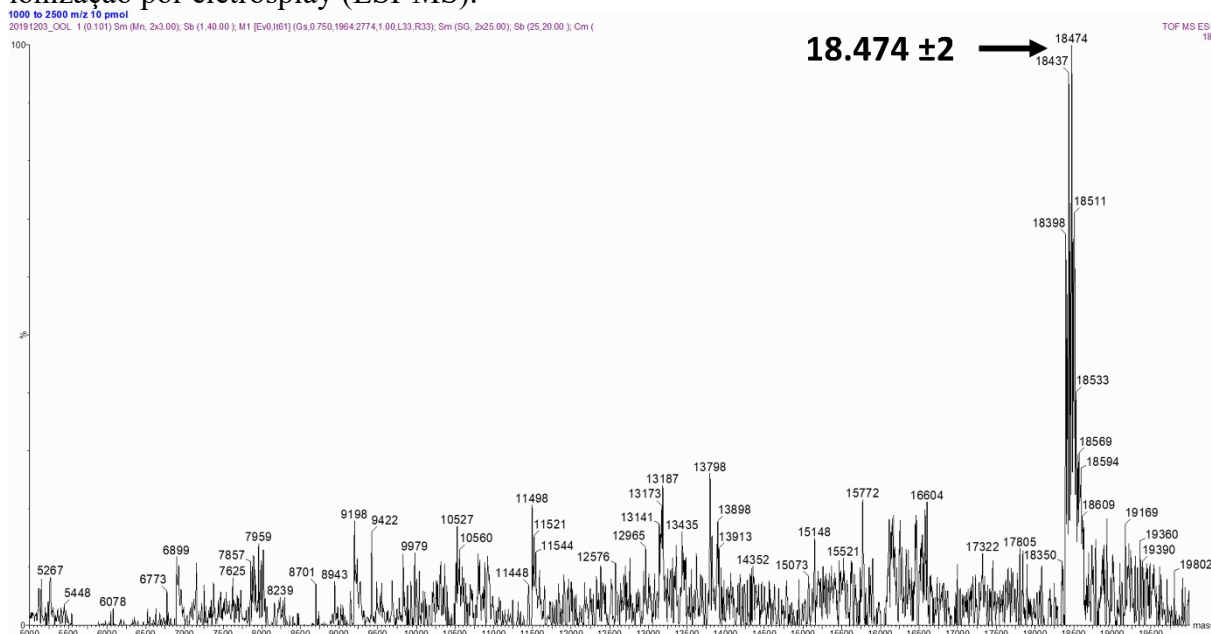


Fonte: Autor. A: Cromatograma da exclusão molecular em BioSuite HR 250, equilibrada com Tris 20 Mm, pH 7,0, contendo 100 mM de NaCl. B: A linha representa a curva de regressão linear calculada pelos valores das proteínas padrões: Tiroglobulina bovina, 669 kDa (1), Apoferrina, 443 kDa (2), β -amilase, 220 kDa (3), Álcool desidrogenase, 150 kDa (4), Albumina sérica bovina, 66 kDa (5), Anidrase carbônica, 29 kDa (6) e Lisozima, 14 kDa (7).

4.4.2 Determinação da massa molecular intacta

Em ESI-MS, a massa molecular da OOL foi de 18.474 ± 2 Da (FIGURA 7), estando em concordância com a massa estimada por SDS-PAGE, com pequenas alterações em torno do valor, indicando a presença de isoformas. A ocorrência de isoformas em lectinas de algas é bastante comum na literatura, como observado na lectina de *Amansia multifida* da mesma família de *O. obtusiloba*, que apresenta cinco isoformas (MESQUITA *et al.*, 2021), assim como em *Solieria filiformis*, SfL – 1 e SfL – 2 (CHAVES *et al.*, 2018b); *Bryothamnion seaforthii*, BSL-1, BSL-2, BSL-3, BSL-4 e BSL-5 (GONZAGA DO NASCIMENTO-NETO *et al.*, 2012); *Bryothamnion triquetrum*, BTL (CALVETE *et al.*, 2000); *Eucheuma serra*, ESA – 1 e ESA – 2 (KAWAKUBO *et al.*, 1997) e *Hypnea japonica*, hipninas A, B, C e D (HORI *et al.*, 1986).

Figura 7 – Determinação da massa molecular de OOL por espectrometria de massa de ionização por eletrospray (ESI-MS).



Fonte: Autor. ESI-MS deconvolvido de OOL. A lectina ($10 \text{ pmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) foi dissolvida em acetonitrila 50% contendo ácido fórmico a 0,2% e infundido na fonte NanoEsi acoplada a um espectrômetro de massas ESI-Q-ToF.

4.4.3 Determinação da estrutura primária parcial de OOL

A digestão de OOL com a enzima tripsina produziram no total 13 peptídeos (TABELA 7).

Tabela 7 – Peptídeos sequenciados de OOL resultantes da digestão triptica.

Peptídeo	(m/z)	Sequência de aminoácidos	Massa		Δ (Da)
			Observada	Calculada	
T1	817.34	QMACQFTLSANAYK	1631.66	1631.74	0.08
T2	853.35	RTQCEFTNNGVCLY	1703.70	1703.73	0.04
T3	544.27	QGSSVGGTLGK	1086.52	1086.56	0.04
T4	858.88	ENNSCQFTLPADLHK	1715.74	1715.75	0.01
T5	353.21	LTFPAR	703.38	703.40	0.02
T6	449.28	SPQPLVTR	896.52	896.50	-0.02
T7	434.23	LTSQQYK	866.44	866.44	0.01
T8	812.36	PTPGTNDNYLGGCVR	1619.66	1619.73	0.07
T9	729.83	KMETGHCQDHDT	1457.64	1457.56	-0.08
T10	551.29	QPSQAGTVDAK	1100.54	1100.54	-0.02
T11	810.88	PTPGTNDNYLGGCVR	1619.70	1619.73	0.03
T12	945.43	MWTETTSNPGLTYPYK	1887.82	1887.87	0.05
T13	836.47	PTYEGLGAPDPEQGLK	1670.90	1670.81	-0.09

Fonte: Autor. (m/z) : massa carga; Δ : massa calculada – massa observada; T: tripsina.

A determinação da estrutura primária parcial de OOL foi realizada por sequenciamento dos peptídeos por (MS/MS) oriundos da digestão triptica. Uma busca por

estruturas protéicas com sequências de aminoácidos semelhantes aos peptídeos sequenciados de OOL foi realizada por meio do BLASTp (MADDEN, 2002). Quando os peptídeos de OOL foram comparados com todas as outras sequências de proteínas depositadas em bancos de dados públicos, nenhuma similaridade significativa foi encontrada.

Esses resultados, apesar de preliminares e parciais, quando alinhados com algumas características díspares das habitualmente observadas em lectinas de algas marinhas vermelhas, como a não hemaglutinação por eritrócitos tratados com enzimas proteolíticas e de não se apresentar como um monômero, pode sugerir que OOL não está relacionada evolutivamente a nenhuma outra estrutura de lectina conhecida, podendo ser membro de uma nova família de lectinas (CALVETE *et al.*, 2000).

Para que haja essa definição, os estudos de determinação da estrutura primária são o primeiro passo. No caso das lectinas, essa etapa é ainda mais importante, podendo servir para caracterizar a massa da molécula; sua especificidade, ou seja, o domínio de ligação; a composição de aminoácidos e o compartilhamento de domínios entre eles; o parentesco estrutural, pela análise da similaridade à outras proteínas distribuídas em bancos de dados; a heterogeneidade, como presença de isoformas; além de modificações pós-traducionais, como glicosilação e fosforilação (TRINH, 2021).

É também devido à essa caracterização, da diferença de especificidade de açúcar de lectinas/ hemaglutininas e a diversidade de glicosilação das moléculas, que elas são fortemente relacionadas como iniciadores de reações distintas com diferentes tipos de células (DAN *et al.*, 2016). Conseqüentemente, à capacidade de reconhecer especificamente os carboidratos da superfície celular tornaria essas proteínas agentes de ligação e reconhecimento de uma ampla gama de patógenos, incluindo fungos, bactérias, vírus e parasitas, além de as tronar capaz de aglutinar e neutralizar esses microrganismos.

Assim como OOL, outras lectinas oriundas de algas, principalmente vermelhas, estão atraindo a atenção, várias foram descobertas de organismos pertencentes a este conjunto de algas, tais como: EAA-1 e EAA-2 (KAWAKUBO *et al.*, 1999); *Pterocladia capillacea*, PcL (OLIVEIRA *et al.*, 2002); *Gracilaria cornea*, GCL (LIMA *et al.*, 2005); *Acanthophora spicifera*, ASL (MANGAIYARKARASI; NADIMUTHU; ADITHAN, 2019); e recentemente, *Grateloupia chiangii*, GCL (HWANG *et al.*, 2020) e *Kappaphycus striatus*, KSL (HUNG; TRINH, 2021). Essas proteínas são objetos de estudo, também graças a essas propriedades biotecnológicas/ farmacológicas e terapêuticas já observadas, incluindo atividades antitumoral, antimicrobiana, anti-inflamatória, antinociceptiva e antiviral, como exemplo, a lectina Griffithsin (GRFT), de *Griffithsia* sp. que já passa por testes para a formulação de GRFT em

um produto microbicida contra o retrovírus HIV (WATANABE *et al.*, 2013; KRAMZER *et al.*, 2021).

Além disso, OOL, se apresenta promissora, pois *O. obtusiloba* já demonstrou diversas atividades biológicas, principalmente pelos seus extratos, como na fração descrita há mais de uma década atrás por DE OLIVEIRA *et al.* (2009), onde já apresentava composição rica em lectinas, capaz de inibir as enzimas tripsina e α -amilase, indicando seu potencial uso na produção de medicamentos contra o diabetes.

5 CONCLUSÃO

Uma lectina presente na alga marinha vermelha *Osmundaria obtusiloba* (OOL) foi purificada pela combinação de precipitação salina com sulfato de amônio e das cromatografias de troca iônica e afinidade. A lectina estável em pH neutro, demonstrou possuir preferência de ligação à manose, ressaltando seu potencial biotecnológico, uma vez que essa especificidade é comum em moléculas que combatem doenças respiratórias. Através de espectrometria de massas foi possível obter informações parciais sobre sua estrutura primária, determinada em 13 peptídeos sequenciados por (MS/MS), oriundos da digestão triptica. Contudo, novos estudos são necessários para determinação estrutural completa dessa promissora lectina de alga marinha vermelha.

REFERÊNCIAS

- ABREU, T. M.; MONTEIRO, V. S.; MARTINS, A. B. S.; TELES, F. B.; DA CONCEIÇÃO RIVANOR, R. L.; MOTA, É. F.; MACEDO, D. S.; VASCONCELOS, S. M. M.; JÚNIOR, J. E. R. H.; BENEVIDES, N. M. B. Involvement of the dopaminergic system in the antidepressant-like effect of the lectin isolated from the red marine alga *Solieria filiformis* in mice. **International journal of biological macromolecules**, v. 111, p. 534-541, 2018.
- ABREU, T. M.; RIBEIRO, N. A.; CHAVES, H. V.; JORGE, R. J. B.; BEZERRA, M. M.; MONTEIRO, H. S. A.; VASCONCELOS, I. M.; MOTA, E. F.; BENEVIDES, N. M. B. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the lectin from marine red alga *Solieria filiformis*. **Planta medica**, v. 82, n. 07, p. 596-605, 2016.
- AGARDH, J. G. **Species genera et ordines algarum: seu Descriptiones succinctae specierum, generum et ordinum, quibus algarum regnum constituitur**. CWK Gleerup, 1863.
- AHMADKELAYEH, S.; HAWBOLDT, K. Extraction of lipids and astaxanthin from crustacean by-products: A review on supercritical CO₂ extraction. **Trends in Food Science & Technology**, 2020.
- ALENCAR, D. B.; DINIZ, J. C.; ROCHA, S. A.; PIRES-CAVALCANTE, K.; LIMA, R. L.; SOUSA, K. C.; FREITAS, J. O.; BARACHO, R. B. B. M.; SAMPAIO, A. H.; VIANA, F. A.; SAKER-SAMPAIO, S. Fatty acid composition from the marine red algae *Pterocladia capillacea* (SG Gmelin) Santelices & Hommersand 1997 and *Osmundaria obtusiloba* (C. Agardh) RE Norris 1991 and its antioxidant activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 449-459, 2018.
- ALI, A. Y.; IDRIS, A. M.; EBRAHIM, A. M.; ELTAYEB, M. A. Brown algae (Phaeophyta) for monitoring heavy metals at the Sudanese Red Sea coast. *Applied water science*, v. 7, n. 7, p. 3817-3824, 2017.
- ALSAIDI, S.; CORNEJAL, N.; MAHONEY, O.; MELO, C.; VERMA, N.; BONNAIRE, T.; CHANG, T.; O'KEEFE, B. R.; SAILER, J.; ZYDOWSKY, T. M.; TELESHOVA, N.; ROMERO, J. A. F. Griffithsin and Carrageenan Combination Results in Antiviral Synergy against SARS-CoV-1 and 2 in a Pseudoviral Model. **Marine Drugs**, v. 19, n. 8, p. 418, 2021.
- ALSALOOM, A. N. Biochemical characterization of wheat seed lectin and its antifungal activity against seed-borne *Fusarium graminearum* in-vitro and in-situ. **Pak. J. Bot**, v. 53, n. 2, p. 741-747, 2021.
- ALVES, M. F. A. Atividade antihiperlipidêmica e antioxidante de lectina de *Bryothamnion triquetrum* em ratos com diabetes induzido por estreptozotocina. 2015. 53 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia de Recursos Naturais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.
- ALYOUSEF, A. A.; ALQASIM, A.; ALOAHD, M. S. Isolation and characterization of lectin with antibacterial, antibiofilm and antiproliferative activities from *Acinetobacter baumannii* of environmental origin. **Journal of applied microbiology**, v. 124, n. 5, p. 1139-1146, 2018.

- AL-NIAEEMI, B. H.; DAWOOD, M. H. Total lipids estimation and fatty acids analysis of *Bothriocephalus acheilognathi*, a parasitic tapeworm of the common carp *Cyprinus carpio* (L., 1758) from Tigris. **World J Pharm Pharmaceut Sci**, v. 6, n. 9, p. 1641-51, 2017.
- AMADO, I. R.; GONZÁLEZ, M. P.; MURADO, M. A.; VÁZQUEZ, J. A. Shrimp wastewater as a source of astaxanthin and bioactive peptides. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 91, n. 3, p. 793-805, 2016.
- AMEEN, F.; ALSHEHRI, W. A.; AL-ENAZI, N. M.; ALMANSOB, A. L-Asparaginase activity analysis, ansZ gene identification and anticancer activity of a new *Bacillus subtilis* isolated from sponges of the Red Sea. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 84, n. 12, p. 2576-2584, 2020.
- ANAM, C.; PRASEPTIANGGA, D.; NUGRAHANI, M. A.; NURHAYATI, T.; FAJARNINGSIH, N. D.; ZILDA, D. S.; CHASANAH, D.; YUNUS, A. Preliminary characterization of crude lectin fraction of the red alga, *Acrocystis nana* from wediombo beach of the southern coast of Java island, Gunung kidul, Yogyakarta, Indonesia. In: **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**. IOP Publishing, 2017. p. 012016.
- ANDRE, V.; MALAK, N. A.; HUC, A. **Use of collagen of aquatic origin for the production of supports for tissue engineering, and supports and biomaterials obtained**. U.S. Patent n. 6,541,023, 1 abr. 2003.
- ARAVINDAKSHAN, A. K.; NAREDDY, P. K.; KUMAR, N. S. Affinity Purification of a New Lactose Specific Lectin from *Asterias rubens* and its Specific Interaction with Cation Independent Mannose 6-phosphate Receptor. **Trends in Carbohydrate Research**, v. 9, n. 2, 2017.
- ARRIETA, J. M.; ARNAUD-HAOND, S.; DUARTE, C. M. What lies underneath: conserving the oceans' genetic resources. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 43, p. 18318-18324, 2010.
- AUB, J. C.; SANFORD, B. H.; COTE, M. N. Studies on reactivity of tumor and normal cells to a wheat germ agglutinin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 54, n. 2, p. 396, 1965.
- BARRE, A.; VAN DAMME, E. J.; SIMPLICIEN, M.; BENOIST, H.; ROUGÉ, P. Man-Specific, GalNAc/T/Tn-Specific and Neu5Ac-Specific seaweed lectins as glycan probes for the SARS-CoV-2 (COVID-19) coronavirus. **Marine Drugs**, v. 18, n. 11, p. 543, 2020.
- BARRE, A.; VAN DAMME, E. J.; SIMPLICIEN, M.; LE PODER, S.; KLONJKOWSKI, B.; BENOIST, H.; PEYRADE, D.; ROUGÉ, P. Man-Specific Lectins from Plants, Fungi, Algae and Cyanobacteria, as Potential Blockers for SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2 (COVID-19) Coronaviruses: Biomedical Perspectives. **Cells**, v. 10, n. 7, p. 1619, 2021.
- BARTON, C.; KOUOKAM, J. C.; LASNIK, A. B.; FOREMAN, O.; CAMBON, A.; BROCK, G.; MONTEFIORI, D. C.; VOJDANI, F.; MCCORMICK, A. A.; O'KEEFE, B. R.; PALMER, K. E. Activity of and effect of subcutaneous treatment with the broad-spectrum antiviral lectin griffithsin in two laboratory rodent models. **Antimicrobial agents and chemotherapy**,

v. 58, n. 1, p. 120-127, 2014.

BARZKAR, N.; JAHROMI, S. T.; POORSAHELI, H. B.; VIANELLO, F. Metabolites from marine microorganisms, micro, and macroalgae: Immense scope for pharmacology. **Marine drugs**, v. 17, n. 8, p. 464, 2019.

BASHARI, M. H.; HUDA, F.; TARTILA, T. S.; SHABRINA, S.; PUTRI, T.; QOMARILLA, N.; ATMAJA, H.; SUBHAN, B.; SUDJI, I. R.; MEIYANTO, E. Bioactive compounds in the ethanol extract of marine sponge *Stylissa carteri* demonstrates potential anti-cancer activity in breast cancer cells. **Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP**, v. 20, n. 4, p. 1199, 2019.

BENEDETTI, M.; VECCHI, V.; BARERA, S.; DALL'OSTO, L. Biomass from microalgae: the potential of domestication towards sustainable biofactories. **Microbial Cell Factories**, v. 17, n. 1, p. 1-18, 2018.

BENEVIDES, N. M. B.; HOLANDA, M. L.; MELO, F. R.; FREITAS, A. L. P.; SAMPAIO, A. H. Purification and partial characterisation of the lectin from the marine red alga *Enantiocladia dupurreyi* (C. Agardh) Falkenberg. 1998.

BENEVIDES, N. M. B.; LEITE, A. M.; FREITAS, A. L. P. Hemagglutinating activity in the red alga *Solieria filiformis*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal (Brazil)**, 1996.

BHOLA, V.; SWALAHA, F.; KUMAR, R. R.; SINGH, M.; BUX, F. Overview of the potential of microalgae for CO₂ sequestration. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 11, n. 7, p. 2103-2118, 2014.

BIBI, F.; YASIR, M.; AL-SOFYANI, A.; NASEER, M. I.; AZHAR, E. I. Antimicrobial activity of bacteria from marine sponge *Suberea mollis* and bioactive metabolites of *Vibrio* sp. EA348. **Saudi journal of biological sciences**, v. 27, n. 4, p. 1139-1147, 2020.

BILAL, M.; NASIR, I.; TABASSUM, B.; AKREM, A.; AHMAD, A.; ALI, Q. Cytotoxicity and in-vitro antiviral activity of lectin from *Crocus vernus* L. against potato virus Y. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 18, n. 1, p. 1301-1315, 2020.

BJARNASON, A.; MAGNUSDOTTIR, S. K. A C-Type Lectin with Antibacterial Activity in Weather Loach. **Fisheries and Aquaculture Journal**, v. 12, n. 2, p. 1a-1a, 2021.

BOGOLITSYN, K.; DOBRODEEVA, L.; DRUZHININA, A.; OVCHINNIKOV, D.; PARSHINA, A.; SHULGINA, E. Biological activity of a polyphenolic complex of Arctic brown algae. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 5, p. 3341-3348, 2019.

BOYD, W. C.; ALMODÓVAR, L. R.; BOYD, L. G. Agglutinins in marine algae for human erythrocytes. **Transfusion**, v. 6, n. 1, p. 82-83, 1966.

BOYD, W. C.; SHAPLEIGH, E. Antigenic relations of blood group antigens as suggested by tests with lectins. **The Journal of Immunology**, v. 73, n. 4, p. 226-231, 1954.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**,

v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRAWLEY, S. H.; BLOUIN, N. A.; FICKO-BLEAN, E.; WHEELER, G. L.; LOHR, M.; GOODSON, H. V.; JENKINS, J. W.; BLABY-HAAS, C. E.; HELLIWELL, K. E.; CHAN, C. X.; MARRIAGE, DEBASHISH BHATTACHARYA, T. N.; KLEIN, A. S.; BADIS, Y.; BRODIE, J.; CAO, Y.; COLLÉN, J.; DITTAMI, S. M.; GACHON, C. M. M.; GREEN, B. R.; KARPOWICZ, S. J.; KIM, J. W.; KUDAHL, U. J.; LIN, S.; MICHEL, G.; MITTAG, M.; OLSON, B. J. S. C.; PANGILINAN, J. L.; PENG, Y.; QIU, H.; SHU, S.; SINGER, J. T.; SMITH, A. G.; SPRECHER, B. N.; WAGNER, V.; WANG, W.; WANG, Z. Y.; YAN, J.; YARISH, C.; ZÄUNER-RIEK, S.; ZHUANG, Y.; ZOU, Y.; LINDQUIST, E. A.; GRIMWOOD, J.; BARRY, K. W.; ROKHSAR, D. S.; SCHMUTZ, J.; STILLER, J. W.; GROSSMAN, A. W.; PROCHNIK, S. E. Insights into the red algae and eukaryotic evolution from the genome of *Porphyra umbilicalis* (Bangiophyceae, Rhodophyta). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 31, p. E6361-E6370, 2017.

BRUNO, S. F. EKORONG, F. J. A. A.; KARKAL, S. S.; CATHRINE, M. S. B.; KUDRE, T. G. Green and innovative techniques for recovery of valuable compounds from seafood by-products and discards: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 85, p. 10-22, 2019.

BUCK, B. H.; NEVEJAN, N.; WILLE, M.; CHAMBERS, M. D.; CHOPIN, T. Offshore and multi-use aquaculture with extractive species: seaweeds and bivalves. In: **Aquaculture perspective of multi-use sites in the open ocean**. Springer, Cham, 2017. p. 23-69.

BURGESS, J.G. New and emerging analytical techniques for marine biotechnology. **Current opinion in biotechnology**, v. 23, n. 1, p. 29-33, 2012.

CALVETE, J. J.; COSTA, F. H. F.; SAKER-SAMPAIO, S.; MURCIANO, M. P. M.; NAGANO, C. S.; CAVADA, B. S.; GRANGEIRO, T.B.; RAMOS, M.V.; BLOCH, C.; SILVEIRA, S.B., FREITAS, B.T.; SAMPAIO, A.H. The amino acid sequence of the agglutinin isolated from the red marine alga *Bryothamnion triquetrum* defines a novel lectin structure. **Cellular and Molecular Life Sciences CMLS**, v. 57, n. 2, p. 343-350, 2000.

CAPELL, T.; TWYMAN, R. M.; ARMARIO-NAJERA, V.; MA, J. K. C.; SCHILLBERG, S.; CHRISTOU, P. Potential applications of plant biotechnology against SARS-CoV-2. **Trends in Plant Science**, v. 25, n. 7, p. 635-643, 2020.

CARNEIRO, R. F.; DE LIMA J. R.; P. H. P.; CHAVES, R. P.; PEREIRA, R.; PEREIRA, A. L.; DE VASCONCELOS, M. A.; PINHEIRO, U.; TEIXEIRA, E. H.; NAGANO, C. S.; SAMPAIO, A. H. Isolation, biochemical characterization and antibiofilm effect of a lectin from the marine sponge *Aplysina lactuca*. **International journal of biological macromolecules**, v. 99, p. 213-222, 2017.

CARNEIRO, R. F.; DUARTE, P. L.; CHAVES, R. P.; DA SILVA, S. R.; FEITOSA, R. R.; DE SOUSA, B. L.; ALVES, A. W. S.; VASCONCELOS, M. A.; DA ROCHA, B. A. M.; TEIXEIRA, E. H.; SAMPAIO, A. H.; NAGANO, C. S. New lectins from *Codium isthmocladum* Vickers show unique amino acid sequence and antibiofilm effect on pathogenic bacteria. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 6, p. 4263-4276, 2020.

CARNEIRO, R. F.; VIANA, J. T.; TORRES, R. C. F.; DA SILVA, L. T.; ANDRADE, A. L.;

- DE VASCONCELOS, M. A.; PINHEIRO, U.; TEIXEIRA, E. U.; NAGANO, C. S.; SAMPAIO, A. H. A new mucin-binding lectin from the marine sponge *Aplysina fulva* (AFL) exhibits antibiofilm effects. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 662, p. 169-176, 2019.
- CASTRO, R.; GUERRERO-LEGARRETA, I.; BÓRQUEZ, Rodrigo. Chitin extraction from *Allopetrolisthes punctatus* crab using lactic fermentation. **Biotechnology Reports**, v. 20, p. e00287, 2018.
- CARDOZO, K. H.; GUARATINI, T.; BARROS, M. P.; FALCÃO, V. R.; TONON, A. P.; LOPES, N. P.; CAMPOS, S.; TORRES, M. A.; SOUZA, A. O.; COLOPICOLO, P.; PINTO, E. Metabolites from algae with economical impact. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 146, n. 1-2, p. 60-78, 2007.
- CARUSO, G.; FLORIS, R.; SERANGELI, C.; DI PAOLA, L. Fishery wastes as a yet undiscovered treasure from the sea: Biomolecules sources, extraction methods and valorization. **Marine Drugs**, v. 18, n. 12, p. 622, 2020.
- CARVALHO, L. R. D.; GUIMARÃES, S. M. P.; ROQUE, N. F. Sulfated bromophenols from *osmundaria obtusiloba* (c. Agardh) re norris (rhodophyta, ceramiales). **Brazilian Journal of Botany**, v. 29, p. 453-459, 2006.
- CHARRIER, B.; ABREU, M. H.; ARAUJO, R.; BRUHN, A.; COATES, J. C.; DE CLERCK, O.; KATSAROS, C.; ROBAINA, R. R.; WICHARD, T. Furthering knowledge of seaweed growth and development to facilitate sustainable aquaculture. **New Phytologist**, v. 216, n. 4, p. 967-975, 2017.
- CHAVES, R. P.; DA SILVA, S. R.; DA SILVA, J. P. F. A.; CARNEIRO, R. F.; DE SOUSA, B. L.; ABREU, J. O.; CARVALHO, F. C. T.; ROCHA, C. R. C.; FARIAS, W. R. L.; SOUSA, O. V.; SILVA, A. L. C.; SAMPAIO, A. H.; NAGANO, C. S. Meristiella echinocarpa lectin (MEL): A new member of the OAAH-lectin family. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 4, p. 2629-2638, 2018a.
- CHAVES, R. P.; DA SILVA, S. R.; NETO, L. G. N.; CARNEIRO, R. F.; DA SILVA, A. L. C.; SAMPAIO, A. H.; SOUSA, B. L.; CABRAL, M. G.; VIDEIRA, P. A.; TEIXEIRA, E. H.; NAGANO, C. S. Structural characterization of two isolectins from the marine red alga *Solieria filiformis* (Kützinger) P. W. Gabrielson and their anticancer effect on MCF-7 breast cancer cells. **International journal of biological macromolecules**, v. 107, p. 1320-1329, 2018b.
- CHIKALOVETSI, V.; MIZGINA, T. O.; MOLCHANOVA, V. I.; OVCHARENKO, Y. S.; CHERNIKOV, O. V. Isolation and Characterization of Lectin from the Scallop *Patinopecten yessoensis*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 53, n. 4, p. 717-721, 2017.
- CIRNE-SANTOS, C. C.; BARROS, C. D. S.; NOGUEIRA, C. C. R.; AZEVEDO, R. C.; YAMAMOTO, K. A.; MEIRA, G. L. S.; RATCLIFFE, N. A.; TEIXEIRA, V. L.; CHANASIT, J. S.; FERREIRA, D. F.; PAIXÃO, I. C. N. D. P. Inhibition by marine algae of chikungunya virus isolated from patients in a recent disease outbreak in Rio de Janeiro. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 2426, 2019.

CIRNE-SANTOS, C. C.; DE SOUZA BARROS, C.; NOGUEIRA, C. C. R.; AMORIM, L. D. S. C.; DE MENDONÇA CAMPOS, R.; RATCLIFFE, N. A.; TEIXEIRA, V. L.; FERREIRA, D. F.; DE PALMER PAIXAO, I. C. N. Antiviral effect of the seaweed *Osmundaria obtusiloba* against the Zika virus. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 12, n. 25, p. 387-395, 2018.

CORMACI, M.; FURNARI, G.; ALONGI, G. Flora marina bentonica del Mediterraneo: Chlorophyta. **Bullettin of the Gioenia Academy of Natural Sciences of Catania**, v. 47, n. 377, p. FP11-FP436, 2014.

CORMACI, M.; FURNARI, G.; ALONGI, G. Flora marina bentonica del Mediterraneo: Rhodophyta (Rhodymeniophycidae escluse). **Bullettin of the Gioenia Academy of Natural Sciences of Catania**, v. 50, n. 380, p. FP1-FP391, 2017.

COTAS, J.; LEANDRO, A.; MONTEIRO, P.; PACHECO, D.; FIGUEIRINHA, A.; GONÇALVES, A. M.; SILVA, G. J.; PEREIRA, L. Seaweed phenolics: From extraction to applications. **Marine drugs**, v. 18, n. 8, p. 384, 2020.

CUATRECASAS, Pedro; ANFINSEN, Christian B. [31] Affinity chromatography. In: *Methods in enzymology*. Academic press, 1971. p. 345-378.

DAHMOUNE, B., HOUMA-BACHARI, F., CHIBANE, M., AKROUR-AISSOU, C., GUÉGAN, J. P., VIVES, T., JÉHAN, P.; DAHMOUNE, F.; MOUNI, L.; FERRIÈRES, V.; HAUCHARD, D. Microwave assisted extraction of bioactive saponins from the starfish *Echinaster sepositus*: Optimization by response surface methodology and comparison with ultrasound and conventional solvent extraction. **Chemical Engineering and Processing-Process Intensification**, v. 163, p. 108359, 2021.

DAI, M.; LIU, X.; WANG, N.; SUN, J. Squid type II collagen as a novel biomaterial: isolation, characterization, immunogenicity and relieving effect on degenerative osteoarthritis via inhibiting STAT1 signaling in pro-inflammatory macrophages. **Materials Science and Engineering: C**, v. 89, p. 283-294, 2018.

DANOVARO, R.; SNELGROVE, P.; TYLER, P. Challenging the paradigms of deep-sea ecology. **Trends in ecology & evolution**, v. 29, n. 8, p. 465-475, 2014.

DAN, X.; NG, T. B.; WONG, J. H.; CHAN, Y. S.; CHEUNG, R. C. F.; CHAN, W. Y. A hemagglutinin isolated from Northeast China black beans induced mitochondrial dysfunction and apoptosis in colorectal cancer cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1863, n. 9, p. 2201-2211, 2016.

DARA, M.; GIULIANINI, P.; MANFRIN, C.; PARISI, M. G.; PARRINELLO, D.; LA CORTE, C.; VASTA, G. R.; CAMMARATA, M. F-type lectin from serum of the Antarctic teleost fish *Trematomus bernacchii* (Boulenger, 1902): Purification, structural characterization, and bacterial agglutinating activity. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, p. 110633, 2021.

DE ALENCAR ALVES, M. F.; DE ALMEIDA BARRETO, F. K.; DE VASCONCELOS, M. A.; DO NASCIMENTO NETO, L. G.; CARNEIRO, R. F.; DA SILVA, L. T.; NAGANO, C. S.; SAMPAIO, A. H.; TEIXEIRA, E. H. Antihyperglycemic and antioxidant activities of a lectin from the marine red algae, *Bryothamnion seaforthii*, in rats with streptozotocin-induced

diabetes. **International journal of biological macromolecules**, v. 158, p. 773-780, 2020.

DE ALENCAR, D. B.; DE CARVALHO, F. C. T.; REBOUÇAS, R. H.; DOS SANTOS, D. R.; DOS SANTOS PIRES-CAVALCANTE, K. M.; DE LIMA, R. L.; BARACHO, B. M.; BEZERRA, R. M.; VIANA, F. A.; SAMPAIO, A. H.; SOUSA, O. V.; SAKER-SAMPAIO, S. Bioactive extracts of red seaweeds *Pterocladia capillacea* and *Osmundaria obtusiloba* (Floridophyceae: Rhodophyta) with antioxidant and bacterial agglutination potential. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 9, n. 4, p. 372-379, 2016.

DENIS, M.; PALATY, P. M.; BAI, N. R.; SURIYA, S. J. Purification and characterization of a sialic acid specific lectin from the hemolymph of the freshwater crab *Paratelphusa jacquemontii*. **European journal of biochemistry**, v. 270, n. 21, p. 4348-4355, 2003.

DE OLIVEIRA, M. N.; FREITAS, A. L. P.; CARVALHO, A. F. U.; SAMPAIO, T. M. T.; FARIAS, D. F.; TEIXEIRA, D. I. A.; GOUVEIA, S. T.; PEREIRA, J. G. Nutritive and non-nutritive attributes of washed-up seaweeds from the coast of Ceará, Brazil. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 254-259, 2009.

DE OLIVEIRA SOUSA, A. R.; ANDRADE, F. R. N.; CHAVES, R. P.; DE SOUSA, B. L.; DE LIMA, D. B.; DA SILVA SOUZA, R. O.; SILVA, C. G. L.; TEIXEIRA, C. S.; SAMPAIO, A. H.; NAGANO, C. S.; CARNEIRO, R. F. Structural characterization of a galectin isolated from the marine sponge *Chondrilla caribensis* with leishmanicidal potential. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1865, n. 12, p. 129992, 2021.

DE QUEIROZ, I. N. L.; RODRIGUES, J. A. G.; DA CONCEIÇÃO RIVANOR, R. L.; VIEIRA, G. C.; VANDERLEI, E. D. S. O.; BENEVIDES, N. M. B. In vitro interaction of the native lectin isolated from the green seaweed *Caulerpa cupressoides* var. *lycopodium* (Caulerpaceae, Bryopsidales) against cancer HL60 cells. **Acta Fish Aquat Res**, v. 4, p. 117, 2016.

DERBY, N.; LAL, M.; ARAVANTINOU, M.; KIZIMA, L.; BARNABLE, P.; RODRIGUEZ, A.; LAI, M.; WESENBERG, A.; UGAONKAR, S.; LEVENDOSKY, K.; MIZENINA, O.; KLEINBECK, K.; LIFSON, J. F.; PEET, M. M.; LLOYD, Z.; BENSON, M.; HENEINE, W.; O'KEEFE, B. R.; ROBBIANI, E.; MARTINELLI, E.; GRASPERGE, B.; BLANCHARD, J.; GETTIE, A.; TELESHOVA, N.; FERNÁNDEZ-ROMERO, A. J.; ZYDOWSKY, T. M. Griffithsin carrageenan fast dissolving inserts prevent SHIV HSV-2 and HPV infections in vivo. **Nature communications**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2018.

DE SANTANA, M. A.; SANTOS, A. M. C.; OLIVEIRA, M. E.; DE OLIVEIRA, J. S.; BABA, E. H.; SANTORO, M. M.; DE ANDRADE, M. H. G. A novel and efficient and low-cost methodology for purification of *Macrotyloma axillare* (Leguminosae) seed lectin. **International journal of biological macromolecules**, v. 43, n. 4, p. 352-358, 2008.

DE SOUZA, L. A. R.; DORE, C. M. P.; CASTRO, A. J.; DE AZEVEDO, T. C.; DE OLIVEIRA, M. T. B.; MARIA DE FÁTIMA, V. M.; BENEVIDES, N. M. B.; LEITE, E. L. Galactans from the red seaweed *Amansia multifida* and their effects on inflammation, angiogenesis, coagulation and cell viability. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 2, n. 3, p. 154-162, 2012a.

DE SOUZA, L. M.; SASSAKI, G. L.; ROMANOS, M. T. V.; BARRETO-BERGTER,

E. Structural characterization and anti-HSV-1 and HSV-2 activity of glycolipids from the marine algae *Osmundaria obtusiloba* isolated from Southeastern Brazilian coast. **Marine Drugs**, v. 10, n. 4, p. 918-931, 2012b.

DEVI, S.; GARG, S. S.; PRABHAKAR, P. K.; KAUSHAL, N. In vitro anticancer activity of *Bryophyllum pinnatum* Lectin extract and its effects on Cell Cycle Progression and Apoptosis in HeLa cell line. 2021.

DI COSTANZO, F.; DI DATO, V.; IANORA, A.; ROMANO, G. Prostaglandinas em organismos marinhos: uma revisão. **Drogas marinhas**, v. 17, n. 7, pág. 428, 2019.

DOBERVA, M.; STIEN, D.; SORRES, J.; HUE, N.; SANCHEZ-FERANDIN, S.; EPARVIER, V.; FERANDIN, Y.; LEBARON, P.; LAMI, R. Large diversity and original structures of acyl-homoserine lactones in strain MOLA 401, a marine Rhodobacteraceae bacterium. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1152, 2017.

DUONG-LY, K. C.; GABELLI, S. B. Salting out of proteins using ammonium sulfate precipitation. **Methods in enzymology**, v. 541, p. 85-94, 2014.

EDELMAN, G. M.; CUNNINGHAM, B. A.; REEKE, G. N.; BECKER, J. W.; WAXDAL, M. J.; WANG, J. L. The covalent and three-dimensional structure of concanavalin A. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 69, n. 9, p. 2580-2584, 1972.

EGHIANRUWA, Q. A.; OSONIYI, O. R.; MAINA, N.; WACHIRA, S. Bioactive Peptides from Marine Molluscs-A Review. **Int J Biochem Res Rev**, v. 27, p. 1-12, 2019.

ELAYABHARATHI, T.; MARY, J. V. J.; BAI, S. M. M. Characterization of a novel O-acetyl sialic acid specific lectin from the hemolymph of the marine crab, *Atergatis integerrimus* (Lamarck, 1818). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 106, p. 1131-1138, 2020.

EL-MARADNY, Y. A.; EL-FAKHARANY, E. M.; ABU-SERIE, M. M.; HASHISH, M. H.; SELIM, H. S. Lectins purified from medicinal and edible mushrooms: Insights into their antiviral activity against pathogenic viruses. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2021.

ENGLARD, S.; SEIFTER, S. Precipitation techniques. **Methods in enzymology**, v. 182, p. 285-300, 1990.

FABRIS, M.; ABBRIANO, R. M.; PERNICE, M.; SUTHERLAND, D. L.; COMMAULT, A. S.; HALL, C. C.; LABEEUW, L.; MCCAULEY, J. C.; KUZHIUPARAMBIL, U.; RAY, P.; KAHLKE, T.; RALPH, P. J. Emerging technologies in algal biotechnology: Toward the establishment of a sustainable, algae-based bioeconomy. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 279, 2020.

FANG, Y.; GU, S.; LIU, S.; ZHANG, J.; DING, Y.; LIU, J. Extraction of oil from high-moisture tuna liver by subcritical dimethyl ether: feasibility and optimization by the response surface method. **RSC advances**, v. 8, n. 5, p. 2723-2732, 2018.

FELICIAN, F. F.; XIA, C.; QI, W.; XU, H. Collagen from marine biological sources and medical applications. **Chemistry & biodiversity**, v. 15, n. 5, p. e1700557, 2018.

FERDOUSE, F.; HOLDT, S. L.; SMITH, R.; MURUA, P.; YANG, Z. The Global Status of Seaweed Production. **Trade and Utilization**, 2018.

FLÓREZ-FERNÁNDEZ, N.; DOMÍNGUEZ, H.; TORRES, M. D. A green approach for alginate extraction from *Sargassum muticum* brown seaweed using ultrasound-assisted technique. **International journal of biological macromolecules**, v. 124, p. 451-459, 2019.

FONTENELLE, T. P. C.; LIMA, G. C.; MESQUITA, J. X.; DE SOUZA LOPES, J. L.; DE BRITO, T. V.; JÚNIOR, F. D. C. V.; SALES, A. B.; ARAGÃO, K. S.; SOUZA, M. H. L. P.; BARBASAA, L. R.; FREITAS, A. L. P.; FREITAS, A. L. P. Lectin obtained from the red seaweed *Bryothamnion triquetrum*: Secondary structure and anti-inflammatory activity in mice. **International journal of biological macromolecules**, v. 112, p. 1122-1130, 2018.

FRANCESCHINI, I. M.; BURLIGA, A. L.; DE REVIERS, B.; PRADO, J. F.; HAMLAOUI, S. **Algas: uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica**. Artmed Editora, 2009.

GAO, B.; PENG, C.; YANG, J.; YI, Y.; ZHANG, J.; SHI, Q. Cone snails: A big store of conotoxins for novel drug discovery. **Toxins**, v. 9, n. 12, p. 397, 2017.

GE, S.; CHAMPAGNE, P. Cultivation of the marine macroalgae *Chaetomorpha linum* in municipal wastewater for nutrient recovery and biomass production. **Environmental science & technology**, v. 51, n. 6, p. 3558-3566, 2017.

GEYER, M. D. S. Caracterização morfológica e molecular dos representantes da tribo Amansieae (Ceramiales, Rhodomelaceae) no Oceano Atlântico Tropical do Brasil. 2018. 99 f. Tese (Doutorado em Oceanografia) -Universidade Federal do Pernambuco, Recife, 2018.

GONDIM, A. C.; DA SILVA, S. R.; MATHYS, L.; NOPPEN, S.; LIEKENS, S.; SAMPAIO, A. H.; NAGANO, C. S.; ROCHA, C. R. C.; NASCIMENTO, K. S.; CAVADA, B. S.; SADLER, P. J.; BALZARINI, J. Potent antiviral activity of carbohydrate-specific algal and leguminous lectins from the Brazilian biodiversity. **MedChemComm**, v. 10, n. 3, p. 390-398, 2019.

GONZAGA DO NASCIMENTO-NETO, L.; CARNEIRO, R. F.; DA SILVA, S. R.; DA SILVA, B. R.; ARRUDA, F. V. S.; CARNEIRO, V. A.; NASCIMENTO, K. R.; SAMPAIO, S. S.; JÚNIOR, V. A. S.; PORTO, A.L.F.; CAVADA, B. S.; SAMPAIO, A. H.; TEIXEIRA, E. H.; NAGANO, C. S. Characterization of isoforms of the lectin isolated from the red algae *Bryothamnion seaforthii* and its pro-healing effect. **Marine drugs**, v. 10, n. 9, p. 1936-1954, 2012.

GUIRY, M.D.; GUIRY, G.M. 2021. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 24 September 2021

GUSTAFSON, K. R.; SOWDER II, R. C.; HENDERSON, L. E.; CARDELLINA II, J. H.; MCMAHON, J. B.; RAJAMANI, U.; PANNELL, L. K.; BOYD, M. R. Isolation, primary sequence determination, and disulfide bond structure of cyanovirin-N, an anti-HIV (human immunodeficiency virus) protein from the Cyanobacterium *Nostoc ellipsosporum*. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 238, n. 1, p. 223-228, 1997.

GUTIÉRREZ-RODRÍGUEZ, A. G.; JUÁREZ-PORTILLA, C.; OLIVARES-BAÑUELOS, T.; ZEPEDA, R. C. Anticancer activity of seaweeds. **Drug Discovery Today**, v. 23, n. 2, p. 434-447, 2018.

HAN, J. W.; JUNG, M. G.; SHIM, E. Y.; SHIM, J. B.; KIM, Y. M.; KIM, G. H. Functional recombinants designed from a fetuin/asialofetuin-specific marine algal lectin, rhodobindin. **Marine drugs**, v. 13, n. 4, p. 2183-2195, 2015.

HAN, J. W.; KLOCHKOVA, T. A.; SHIM, J. B.; YOON, K.; KIM, G. H. Isolation and characterization of a sex-specific lectin in a marine red alga, *Aglaothamnion oosumiense* Itono. **Applied and environmental microbiology**, v. 78, n. 20, p. 7283-7289, 2012.

HAN, J. W.; YOON, K. S.; KLOCHKOVA, T. A.; HWANG, M. S.; KIM, G. H. Purification and characterization of a lectin, BPL-3, from the marine green alga *Bryopsis plumosa*. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, n. 4, p. 745-753, 2011.

HAN, T.; SHI, R.; QI, Z.; HUANG, H.; LIANG, Q.; LIU, H. Interactive effects of oyster and seaweed on seawater dissolved inorganic carbon systems: implications for integrated multi-trophic aquaculture. **Aquaculture Environment Interactions**, v. 9, p. 469-478, 2017.

HAŠLER, P.; DVOŘÁK, P.; JOHANSEN, J. R.; KITNER, M.; ONDŘEJ, V.; POULÍČKOVÁ, A. Morphological and molecular study of epipelagic filamentous genera *Phormidium*, *Microcoleus* and *Geitlerinema* (Oscillatoriales, Cyanophyta/Cyanobacteria). **Fottea**, v. 12, n. 2, p. 341-356, 2012.

HATAKEYAMA, T. Galactose-Specific, Hemolytic Lectin CEL-III from *Cucumaria echinata*. In: **Lectin Purification and Analysis**. Humana, New York, NY, 2020. p. 159-164.

HE, J.; SHEN, C.; LIANG, H.; FANG, X.; LU, J. Antimicrobial properties and immune-related gene expression of a C-type lectin isolated from *Pinctada fucata martensii*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 105, p. 330-340, 2020.

HIRAYAMA, M.; LY, B. M.; HORI, K. Biological activity, cDNA cloning and primary structure of lectin KSA-2 from the cultivated red alga *Kappaphycus striatum* (Schmitz) Doty ex Silva. **Phytochemistry Letters**, v. 14, p. 99-105, 2015.

HIRAYAMA, M.; SHIBATA, H.; IMAMURA, K.; SAKAGUCHI, T.; HORI, K. High-mannose specific lectin and its recombinants from a carrageenophyta *Kappaphycus alvarezii* represent a potent anti-HIV activity through high-affinity binding to the viral envelope glycoprotein gp120. **Marine biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 144-160, 2016.

HOFFMANN, M.; KLEINE-WEBER, H.; SCHROEDER, S.; KRÜGER, N.; HERRLER, T.; ERICHSEN, S.; SCHIERGENS, T. S.; HERRLER, G.; WU, N. H.; NITSCHKE, A.; MULLER, M. A.; DROSTEN, C.; PÖHLMANN, S. A entrada da célula SARS-CoV-2 depende de ACE2 e TMPRSS2 e é bloqueada por um inibidor de protease clinicamente comprovado. **célula**, v. 181, n. 2, pág. 271-280. e8, 2020.

HOLANDA, M. L.; MELO, V. M. M.; SILVA, L. M. C. M.; AMORIM, R. C. N.; PEREIRA, M. G.; BENEVIDES, N. M. B. Differential activity of a lectin from *Solieria filiformis* against

human pathogenic bacteria. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, n. 12, p. 1769-1773, 2005.

HOPPE, H. A. Marine algae: their products and constituents. In: **Vol. 2**. De Gruyter, 2019. p. 3-48.

HORI, K.; MIYAZAWA, K.; FUSETANI, N.; HASHIMOTO, K.; ITO, K. Hypnins, low-molecular weight peptidic agglutinins isolated from a marine red alga, *Hypnea japonica*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology**, v. 873, n. 2, p. 228-236, 1986.

HORI, K.; MIYAZAWA, K.; ITO, K. Hemagglutinins in seaweed. *Journal of the Japanese Society of Fisheries Science*, v. 47, n. 6, p. 793-798, 1981.

HORI, K.; MATSUBARA, K.; MIYAZAWA, K. Primary structures of two hemagglutinins from the marine red alga, *Hypnea japonica*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1474, n. 2, p. 226-236, 2000.

HORI, K.; MIYAZAWA, K.; ITO, K. Some common properties of lectins from marine algae. **Hydrobiologia**, v. 204, n. 1, p. 561-566, 1990.

HORI, K.; SATO, Y.; ITO, K.; FUJIWARA, Y.; IWAMOTO, Y.; MAKINO, H.; KAWAKUBO, A. Strict specificity for high-mannose type N-glycans and primary structure of a red alga *Euclima serra* lectin. **Glycobiology**, v. 17, n. 5, p. 479-491, 2007.

HOU, Y.; CARNE, A.; MCCONNELL, M.; MROS, S.; BEKHIT, A. A.; BEKHIT, A. E. D. A. Macroporous resin extraction of PHNQs from *Evechinus chloroticus* sea urchin and their in vitro antioxidant, anti-bacterial and in silico anti-inflammatory activities. **Lwt**, v. 131, p. 109817, 2020.

HUNG, L. D.; HIRAYAMA, M.; LY, B. M.; HORI, K. Purification, primary structure, and biological activity of the high-mannose N-glycan-specific lectin from cultivated *Euclima denticulatum*. **Journal of applied phycology**, v. 27, n. 4, p. 1657-1669, 2015.

HUNG, L. D.; TRINH, P. T. H. Structure and anticancer activity of a new lectin from the cultivated red alga, *Kappaphycus striatus*. **Journal of natural medicines**, v. 75, n. 1, p. 223-231, 2021.

HWANG, H. J.; HAN, J. W.; JEON, H.; CHO, K.; KIM, J. H.; LEE, D. S.; HAN, J. W. Characterization of a novel mannose-binding lectin with antiviral activities from red alga, *Grateloupia chiangii*. **Biomolecules**, v. 10, n. 2, p. 333, 2020.

IMAMICHI, Y.; YOKOYAMA, Y. Purification, characterization and cDNA cloning of a novel lectin from the jellyfish *Nemopilema nomurai*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 156, n. 1, p. 12-18, 2010.

JAYATHILAKE, J. M. N. J.; GUNATHILAKE, K. V. K. Cnidarian toxins: recent evidences for potential therapeutic uses. **The European Zoological Journal**, v. 87, n. 1, p. 708-713, 2020.

KABIR, K. A.; AMIN, R.; HASAN, I.; ASADUZZAMAN, A. K. M.; KHATUN, H.; KABIR, S. R. *Geodorum densiflorum* rhizome lectin inhibits Ehrlich ascites carcinoma cell growth by inducing apoptosis through the regulation of BAX, p53 and NF- κ B genes expression. **International journal of biological macromolecules**, v. 125, p. 92-98, 2019.

KADAM, S. U.; TIWARI, B. K.; O'DONNELL, C. P. Extraction, structure and biofunctional activities of laminarin from brown algae. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 50, n. 1, p. 24-31, 2015.

KARAS, M.; BACHMANN, D.; HILLENKAMP, F. Influence of the wavelength in high-irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules. *Analytical chemistry*, v. 57, n. 14, p. 2935-2939, 1985.

KAWAKUBO, A.; MAKINO, H.; OHNISHI, J. I.; HIROHARA, H.; HORI, K. Occurrence of highly yielded lectins homologous within the genus *Eucheuma*. **Journal of applied phycology**, v. 11, n. 2, p. 149-156, 1999.

KAWAKUBO, A.; MAKINO, H.; OHNISHI, J. I.; HIROHARA, H.; HORI, K. The marine red alga *Eucheuma serra* J. Agardh, a high yielding source of two isolectins. **Journal of Applied Phycology**, v. 9, n. 4, p. 331-338, 1997.

KHALID, S.; ABBAS, M.; SAEED, F.; BADER-UL-AIN, H.; SULERIA, H.A.R. **Therapeutic potential of seaweed bioactive compounds**. IntechOpen, 2018.

KILPATRICK, D.C. **Handbook of animal lectins, properties and biomedical applications**. Eddinburg: British library, 2000. 468p.

KIM, S.; VENKATESAN, J. Introduction to marine biotechnology. In: **Springer handbook of marine biotechnology**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2015. p. 1-10.

KOYANDE, A. K.; CHEW, K. W.; RAMBABU, K.; TAO, Y.; CHU, D. T.; SHOW, P. L. Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. **Food Science and Human Wellness**, v. 8, n. 1, p. 16-24, 2019.

KRAMZER, L. F.; HAMORSKY, K. T.; GRAEBING, P. W.; WANG, L.; FUQUA, J. L.; MATOBA, N.; LASNIK, A. B.; MONCLA, B. J.; ZHANG, J.; PALMER, K. E.; ROHAN, L. C. Preformulation characterization of griffithsin, a biopharmaceutical candidate for HIV prevention. **AAPS PharmSciTech**, v. 22, n. 3, p. 1-13, 2021.

LA BARRE, S.; POTIN, P.; LEBLANC, C.; DELAGE, L. The halogenated metabolism of brown algae (Phaeophyta), its biological importance and its environmental significance. **Marine drugs**, v. 8, n. 4, p. 988-1010, 2010.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p.680–683, 1970.

LAM, S. K.; NG, T. B. Lectins: production and practical applications. **Applied microbiology and biotechnology**. 2011 Jan;89(1):45-55.

LANDSTEINER, K. *The Specificity of Serological Reactions*: Rev. Ed. With a Chapter on

Molecular Structure and Intermolecular Forces, by Linus Pauling, and with a Bibliography of Dr. Landsteiner's Works and a New Pref., by Merrill W. Chase. **Dover Publications**, 1962.

LAURENS, L. M.; CHEN-GLASSER, M.; MCMILLAN, J. D. A perspective on renewable bioenergy from photosynthetic algae as feedstock for biofuels and bioproducts. **Algal Research**, v. 24, p. 261-264, 2017.

LEE, C. Griffithsin, a highly potent broad-spectrum antiviral lectin from red algae: from discovery to clinical application. **Marine drugs**, v. 17, n. 10, p. 567, 2019.

LEE, Y. J.; CHO, Y.; TRAN, H. N. K. Secondary metabolites from the marine sponges of the genus *Petrosia*: A literature review of 43 years of research. **Marine Drugs**, v. 19, n. 3, p. 122, 2021.

LEITE, Y. F. M. M.; SILVA, L. M. C. M.; DAS NEVES AMORIM, R. C.; FREIRE, E. A.; DE MELO JORGE, D. M.; GRANGEIRO, T. B.; BENEVIDES, N. M. B. Purification of a lectin from the marine red alga *Gracilaria ornata* and its effect on the development of the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1724, n. 1-2, p. 137-145, 2005.

LIENER, I (Ed.). **The lectins: properties, functions, and applications in biology and medicine**. Elsevier, 2012.

LIGHT, N. D.; TANNER, M. J. A. Changes in surface-membrane components during the differentiation of rabbit erythroid cells. **Biochemical Journal**, v. 164, n. 3, p. 565-578, 1977.

LIMA, M. E.; CARNEIRO, M. E.; NASCIMENTO, A. E.; GRANGEIRO, T. B.; HOLANDA, M. L.; AMORIM, R. C.; BENEVIDES, N. M. Purification of a lectin from the marine red alga *Gracilaria cornea* and its effects on the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 16, p. 6414-6419, 2005.

LIRA, M. L. F.; LOPES, R.; GOMES, A. P.; BARCELLOS, G.; VERÍCIMO, M.; OSAKO, K.; RAMIREZ, F. A. O.; RAMOS, C. J. B.; CAVALCANTI, D. N.; TEIXEIRA, V. L.; DO AMARAL, V. Anti-leishmanial activity of Brazilian green, brown, and red algae. **Journal of applied phycology**, v. 28, n. 1, p. 591-598, 2016.

LIS, H.; SHARON, N. Lectins as molecules and as tools. **Annual Review of Biochemistry**, v. 55, p. 35-67, 1986.

LIU, X.; LI, X.; PENG, M.; WANG, X.; DU, X.; MENG, L.; ZHAI, J.; LIU, H.; YU, H.; ZHANG, Q. A novel C-type lectin from spotted knifejaw, *Oplegnathus punctatus* possesses antibacterial and anti-inflammatory activity. **Fish & shellfish immunology**, v. 92, p. 11-20, 2019.

LIU, Z.; LI, L.; XUE, B.; ZHAO, D.; ZHANG, Y.; YAN, X. A New Lectin from *Auricularia auricula* Inhibited the Proliferation of Lung Cancer Cells and Improved Pulmonary Flora. **BioMed Research International**, v. 2021, 2021.

LUO, Y.; XU, X.; LIU, J.; LI, J.; SUN, Y.; LIU, Z.; JINZHI, L.; VAN, D. E.; JAN, B.; BAO, J. A novel mannose-binding tuber lectin from *Typhonium divaricatum* (L.) Decne (family

Araceae) with antiviral activity against HSV-II and anti-proliferative effect on human cancer cell lines. **BMB Reports**, v. 40, n. 3, p. 358-367, 2007.

MADDEN, T. The BLAST Sequence Analysis Tool. 2002 Oct 9 [Updated 2003 Aug 13]. **The NCBI Handbook [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US)**, 2002.

MANGAIYARKARASI, R.; NADIMUTHU, N.; ADITHAN, C. Purification and characterization of Haemagglutinins (lectins) from the marine red alga *Acanthophora spicifera* (Vahl) Boergesen. **Algological Studies**, p. 29-40, 2019.

MASSI, M. N.; AHMAD, A. Cloning and in vitro anti-mycobacterial activity of lectin protein in combination with streptomycin to increase sensitivity against *Mycobacterium tuberculosis*. **International Journal of Biotechnology and Biochemistry**, v. 8, n. 2, p. 101-111, 2012.

MAZALOVSKA, M.; KOUOKAM, J. Calvin. Lectins as promising therapeutics for the prevention and treatment of HIV and other potential coinfections. **BioMed research international**, v. 2018, 2018.

MEDINA-RAMIREZ, G.; GIBBS, R. V.; CALVETE, J. J.; CARPENTER, B. G. Micro-heterogeneity and molecular assembly of the haemagglutinins from the red algae *Bryothamnion seaforthii* and *B. triquetrum* from the Caribbean Sea. **European Journal of Phycology**, v. 42, n. 1, p. 105-112, 2007.

MEHBUB, M. F.; LEI, J.; FRANCO, C.; ZHANG, W. Marine sponge derived natural products between 2001 and 2010: trends and opportunities for discovery of bioactives. **Marine drugs**, v. 12, n. 8, p. 4539-4577, 2014.

MELO, F.R.; BENEVIDES, N.; PEREIRA, M.G.; HOLANDA, M.L.; MENDES, F.N.; OLIVEIRA, S.R.; FREITAS, A.L.P.; SILVA, L.M. Purification and partial characterisation of a lectin from the red marine alga *Vidalia obtusiloba* C. Agardh. **Brazilian Journal of Botany**, v. 27, n. 2, p. 263-269, 2004.

MESQUITA, J. X.; DE BRITO, T. V.; FONTENELLE, T. P. C.; DAMASCENO, R. O. S.; DE SOUZA, M. H. L. P.; DE SOUZA LOPES, J. L.; BELTRAMINI, L. M.; BARBOSA, A.L.R.; FREITAS, A. L. P. Lectin from red algae *Amansia multifida* Lamouroux: Extraction, characterization and anti-inflammatory activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 170, p. 532-539, 2021.

MEULEMAN, P.; ALBECKA, A.; BELOUZARD, S.; VERCAUTEREN, K.; VERHOYE, L.; WYCHOWSKI, C.; ROELS, G. L.; PALMER, K. E.; DUBUISSON, J. Griffithsin has antiviral activity against hepatitis C virus. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 55, n. 11, p. 5159-5167, 2011.

MILLET, J. K.; SÉRON, K.; LABITT, R. N.; DANNEELS, A.; PALMER, K. E.; WHITTAKER, G. R.; DUBUISSON, J.; BELOUZARD, S. Middle East respiratory syndrome coronavirus infection is inhibited by griffithsin. **Antiviral research**, v. 133, p. 1-8, 2016.

MISHRA, A.; BEHURA, A.; MAWATWAL, S.; KUMAR, A.; NAIK, L.; MOHANTY, S. S.;

MANNA, D.; DOKANIA, P.; MISHRA, A.; PATRA, S. K.; DHIMAN, R. Structure-function and application of plant lectins in disease biology and immunity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 134, p. 110827, 2019.

MI, Y.; ZHANG, J.; HE, S.; YAN, X. New peptides isolated from marine cyanobacteria, an overview over the past decade. **Marine drugs**, v. 15, n. 5, p. 132, 2017.

MOLCHANOVA, V.; CHERNIKOV, O.; CHIKALOVETS, I.; LUKYANOV, P. Purification and partial characterization of the lectin from the marine red alga *Tichocarpus crinitus* (Gmelin) Rupr. (Rhodophyta). 2010.

MOLCHANOVA, V.; CHIKALOVETS, I.; CHERNIKOV, O.; BELOGORTSEVA, N.; LI, W.; WANG, J. H.; YUN, D.; ZHENG, Y. T.; LUKYANOV, P. Uma nova lectina do verme do mar *Serpula vermicularis*: isolamento, caracterização e atividade anti-HIV. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 145, n. 2, pág. 184-193, 2007.

MORI, T.; O'KEEFE, B. R.; SOWDER, R. C.; BRINGANS, S.; GARDELLA, R.; BERG, S.; COCHRAN, P.; TURPIN, J. A.; JÚNIOR, B. R. W.; MCMAHON, J. B.; BOYD, M. R. Isolation and characterization of griffithsin, a novel HIV-inactivating protein, from the red alga *Griffithsia* sp. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 10, p. 9345-9353, 2005.

MU, J.; HIRAYAMA, M.; SATO, Y.; MORIMOTO, K.; HORI, K. A novel high-mannose specific lectin from the green alga *Halimeda renschii* exhibits a potent anti-influenza virus activity through high-affinity binding to the viral hemagglutinin. **Marine drugs**, v. 15, n. 8, p. 255, 2017.

MUKHAMMADIEV, R.S.; SKVORTSOV, E.V.; VALIULLIN, L.R.; GLINUSHKIN, A.P.; BAGAEVA, T. V. Isolation, Purification, and Characterization of a Lectin from the Fungus *Fusarium solani* 4. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 57, n. 2, pág. 206-211, 2021.

NABAVI, Z.; BANIARDALANI, M.; BASSERI, H. Purification and Partial Characterization of Agglutinin Lectin from Hemolymph of German Cockroach, *Blattella germanica*. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, v. 14, n. 2, p. 144, 2020.

NABETAH, W.; KOUOKAM, J. C.; LASNIK, A. B.; FUQUA, J. L.; PALMER, K. E. Novel Antifungal Activity of Q-Griffithsin, a Broad-Spectrum Antiviral Lectin. **Microbiology Spectrum**, v. 9, n. 2, p. e00957-21, 2021.

NAGAI, T.; SUZUKI, N.; NAGASHIMA, T. Collagen from common minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) unesu. **Food chemistry**, v. 111, n. 2, p. 296-301, 2008.

NAGANO, C. S.; DEBRAY, H.; NASCIMENTO, K. S.; PINTO, V. P.; CAVADA, B. S.; SAKER - SAMPAIO, S.; FARIAS, W. R. L.; SAMPAIO, A. H.; CALVETE, J. J. HCA and HML isolated from the red marine algae *Hypnea cervicornis* and *Hypnea musciformis* define a novel lectin family. **Protein Science**, v. 14, n. 8, p. 2167-2176, 2005a.

NAGANO, C. S.; GALLEGU DEL SOL, F.; CAVADA, B. S.; NASCIMENTO, K. S.; NUNES, E. V.; SAMPAIO, A. H.; CALVETE, J. J. Crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of HML, a lectin from the red marine alga *Hypnea musciformis*. **Acta**

Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications, v. 61, n. 11, p. 997-999, 2005b.

NAGANO, C. S.; MORENO, F. B. M. B.; BLOCH JR, C.; PRATES, M. V.; CALVETE, J. J.; SAKER-SAMPAIO, S.; FARIAS, W. R. L.; TAVARES, T. D.; NASCIMENTO, K. S.; GRANGEIRO, T. B.; CAVADA, B. S.; SAMPAIO, A. H. Purification and characterization of a new lectin from the red marine alga hypnea musciformis. **Protein and Peptide Letters**, v. 9, n. 2, p. 159-165, 2002.

NAGANO, C. S., SANZ, L., CALVETE, J. J. Estudios estructurales de lectinas de algas y de Vegetales Superiores. Editorial Académica Española, 133 pp. 2011.

NASCIMENTO, K. S.; CUNHA, A. I.; NASCIMENTO, K. S.; CAVADA, B. S.; AZEVEDO, A. M.; AIRES - BARROS, M. R. An overview of lectins purification strategies. **Journal of Molecular Recognition**, v. 25, n. 11, p. 527-541, 2012.

NEĐZAREK, A.; DROST, A.; TÓRZ, A.; BOGUSŁAWSKA-WĄS, E. The use of a micro- and ultrafiltration cascade system for the recovery of protein, fat, and purified marinating brine from brine used for herring marination. **Food and Bioproducts Processing**, v. 106, p. 82-90, 2017.

NEVES, A.; DIAS-BARUFFI, M.; FREITAS, A. L. P.; ROQUE-BARREIRA, M. C. Neutrophil migration induced in vivo and in vitro by marine algal lectins. **Inflammation Research**, v. 50, n. 10, p. 486-490, 2001.

NEVES, S. A.; FREITAS, A. L. P.; SOUZA, B. W. S.; ROCHA, M. L. A.; CORREIA, M. V. O.; SAMPAIO, D. A.; VIANA, G. S. B. Antinociceptive properties in mice of a lectin isolated from the marine alga *Amansia multifida* Lamouroux. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, n. 1, p. 127-134, 2007.

NORRIS, R. E. The structure, reproduction and taxonomy of *Vidalia* and *Osmundaria* (Rhodophyta, Rhodomelaceae). **Botanical journal of the Linnean Society**, v. 106, n. 1, p. 1-40, 1991.

NOWELL, P. C. Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. **Cancer research**, v. 20, n. 4, p. 462-466, 1960.

O'KEEFE, B. R.; GIOMARELLI, B.; BARNARD, D. L.; SHENOY, S. R.; CHAN, P. K.; MCMAHON, J. B.; PALMER, K. E.; BARNETT, B. W.; MEYERHOLZ, D. K.; LENANE, C. L. W.; MCCRAY JR, P. B. Broad-spectrum in vitro activity and in vivo efficacy of the antiviral protein griffithsin against emerging viruses of the family Coronaviridae. **Journal of virology**, v. 84, n. 5, p. 2511-2521, 2010.

O'KEEFE, B. R.; VOJDANI, F.; BUFFA, V.; SHATTOCK, R. J.; MONTEFIORI, D. C.; BAKKE, J.; MIRSALIS, J.; D'ANDREA, A. L.; HUME, S. D.; BRATCHER, B.; SAUCEDO, C. J.; MCMAHON, J. B.; POGUE, G. P.; PALMER, K. E. Scaleable manufacture of HIV-1 entry inhibitor griffithsin and validation of its safety and efficacy as a topical microbicide component. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 15, p. 6099-6104, 2009.

- OKUYAMA, S.; NAKAMURA-TSURUTA, S.; TATENO, H.; HIRABAYASHI, J.; MATSUBARA, K.; HORI, K. Strict binding specificity of small-sized lectins from the red alga *Hypnea japonica* for core (α 1-6) fucosylated N-glycans. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 73, n. 4, p. 912-920, 2009.
- OLIVEIRA, A. S.; LOSSIO, C. F.; RANGEL, A. J.; MARTINS, M. G.; NASCIMENTO, F. E.; ANDRADE, M. L. D.; CAVADA, B. S.; LACERDA, S. R.; NASCIMENTO, K. S. Detection, purification and characterization of a lectin from freshwater green algae *Spirogyra* spp. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, p. 2113-2117, 2017.
- OLIVEIRA, S. C.; FONSECA, F. V.; ANTUNES, E.; CAMARGO, E. A.; MORGANTI, R. P.; APARÍCIO, R.; TOYAMA, D. O.; BERIAM, L. O.; NUNES, E. V.; CAVADA, B. S.; NAGANO, C. S.; SAMPAIO, A. H.; NASCIMENTO, K. S.; TOYAMA, M. H. Modulation of the pharmacological effects of enzymatically-active PLA 2 by BTL-2, an isolectin isolated from the *Bryothamnion triquetrum* red alga. **BMC biochemistry**, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2008.
- OLIVEIRA, S. R.; NASCIMENTO, A. E.; LIMA, M. E.; LEITE, Y. F.; BENEVIDES, N. Purification and characterisation of a lectin from the red marine alga *Pterocladia capillacea* (SG Gmel.) Santel. & Hommers. **Brazilian Journal of Botany**, v. 25, p. 397-403, 2002.
- PANAHI, H. K. S.; DEHHAGHI, M.; AGHBASHLO, M.; KARIMI, K.; TABATABAEI, M. Shifting fuel feedstock from oil wells to sea: Iran outlook and potential for biofuel production from brown macroalgae (ochrophyta; phaeophyceae). **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 112, p. 626-642, 2019.
- PANG, Q.; LIU, X.; ZHAO, B.; WEI, W.; ZHANG, X.; ZHAO, L.; XIE, J.; SUN, H. Purification, characterization and induction of a C-type lectin in the freshwater planarian *Dugesia japonica*. **Central European Journal of Biology**, v. 7, n. 2, p. 354-361, 2012.
- PATHAK, S. Marine bioprospecting: bioactive compounds from cnidarians and molluscs-a review. In: **Proceedings of the National Conference on Innovations in Biological Sciences (NCIBS)**. 2020.
- PEIXINHO, V. M.; KINOSHITA, L. S.; OLIVEIRA FILHO, E. C. Sobre a Presença de *Floridorubina* em *Vidalia obtusiloba*. (C. Agardh) J. Agardh (Rhodophyta-Rhodomelaceae). **Boletim de Botânica**, v. 1, p. 109-115, 1973.
- PEREIRA, L.; NETO, J. M. eds. Marine algae: biodiversity, taxonomy, environmental assessment, and biotechnology. CRC Press, 2014.
- PINTO, V.; DEBRAY, H.; DUS, D.; TEIXEIRA, E. H.; DE OLIVEIRA, T. M.; CARNEIRO, V. A.; TEIXEIRA, A. H.; FILHO, G. C.; NAGANO, C. S.; NASCIMENTO, K. S.; SAMPAIO, A. H.; CAVADA, B. S. Lectins from the red marine algal species *Bryothamnion seaforthii* and *Bryothamnion triquetrum* as tools to differentiate human colon carcinoma cells. **Advances in pharmacological sciences**, v. 2009, 2009.
- PUSHPABAI, R. R.; WILSON ALPHONSE, C. R.; MANI, R.; ARUN APTE, D.; FRANKLIN, J. B. Diversity of Conopeptides and Conoenzymes from the Venom Duct of the Marine Cone Snail *Conus bayani* as Determined from Transcriptomic and Proteomic Analyses. **Marine Drugs**, v. 19, n. 4, p. 202, 2021.

QUERELLOU, J.; CADORET, J. P.; ALLEN, M.J.; COLLÉN, J. Marine biotechnology. In: **Introduction to Marine Genomics**. Springer, Dordrecht, 2010. p. 287-313.

ROCHA, J.; PEIXE, L.; GOMES, N. C. M.; CALADO, R. Cnidarians as a source of new marine bioactive compounds—An overview of the last decade and future steps for bioprospecting. **Marine drugs**, v. 9, n. 10, p. 1860-1886, 2011.

ROGERS, D. J.; BLUNDEN, B.; EVANS, P. R. Ptilota plumosa, a new source of a blood-group B specific lectin. **Medical Laboratory Sciences**, v. 34, p. 193-200, 1977.

ROGERS, D. J.; HORI, K. Marine algal lectins: new developments. **Hydrobiologia**, v. 260, n. 1, p. 589-593, 1993.

ROMANO, G.; COSTANTINI, M.; SANSONE, C.; LAURITANO, C.; RUOCCO, N.; IANORA, A. Marine microorganisms as a promising and sustainable source of bioactive molecules. **Marine Environmental Research**, v. 128, p. 58-69, 2017.

RAMOS, D. D. B. M.; ARAÚJO, M. T. D. M. F.; DE LIMA ARAÚJO, T. C.; SILVA, Y. A.; DOS SANTOS, A. C. L. A.; E SILVA, M. G.; PAIVA, P. M. G.; MENDES, R. L.; NAPOLEÃO, T. H. Antinociceptive activity of Schinus terebinthifolia leaf lectin (StelL) in sarcoma 180-bearing mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 259, p. 112952, 2020.

ROJAS-PEREZ, A.; ADORNO, L.; CORDERO, M.; RUIZ, A.; MERCADO-DIAZ, Z.; RODRIGUEZ, A.; BETANCOURT, L.; VÉLEZ, C.; FELICIANO, I.; CABRERA, C.; DIAZ VAZQUEZ, L. M. Biosynthesis of gold nanoparticles using *Osmundaria obtusiloba* extract and their potential use in optical sensing application. **Austin J Biosens Bioelectron**, v. 1, n. 5, p. 1-9, 2015.

ROSALES-MENDOZA, S.; GARCÍA-SILVA, I.; GONZÁLEZ-ORTEGA, O.; SANDOVAL-VARGAS, J. M.; MALLA, A.; VIMOLMANGKANG, S. The potential of algal biotechnology to produce antiviral compounds and biopharmaceuticals. **Molecules**, v. 25, n. 18, p. 4049, 2020.

SAAD, M. H.; EL-FAKHARANY, E. M.; SALEM, M. S.; SIDKEY, N. M. In vitro assessment of dual (antiviral and antitumor) activity of a novel lectin produced by the newly cyanobacterium isolate, *Oscillatoria acuminata* MHM-632 MK014210. 1. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, p. 1-21, 2020.

SADEK, S. A.; HASSANEIN, S. S.; MOHAMED, A. S.; SOLIMAN, A. M.; FAHMY, S. R. Echinochrome pigment extracted from sea urchin suppress the bacterial activity, inflammation, nociception, and oxidative stress resulted in the inhibition of renal injury in septic rats. **Journal of Food Biochemistry**, p. e13729, 2021.

SAMPAIO, A. H.; ROGERS, D. J.; BARWELL, C. J. A galactose-specific lectin from the red marine alga *Ptilota filicina*. **Phytochemistry**, v. 48, n. 5, p. 765-769, 1998.

SAMPAIO, A. H.; ROGERS, D. J.; BARWELL, C. J.; SAKER-SAMPAIO, S.; COSTA, F. H.; RAMOS, M. V. A new isolation procedure and further characterisation of the lectin from

the red marine alga *Ptilota serrata*. **Journal of Applied Phycology**, v. 10, n. 6, p. 539-546, 1998.

SAMPAIO, A. H.; ROGERS, D. J.; BARWELL, C.J.; SAKER-SAMPAIO, S.; NASCIMENTO, K. S.; NAGANO, C. S.; FARIAS, W. R. L. New affinity procedure for the isolation and further characterization of the blood group B specific lectin from the red marine alga *Ptilota plumose*. **Journal of Applied Phycology**, v.14, p.489–495, 2002.

SAN PASCUAL, J. C. K.; LACSAMANA, M. S.; TORIO, M. A; DIAZ, M. G. Q. 2017. Isolation of a Lectin from *Gracilaria firma* Chang & Xia and Determination of Some of Its Biological Activities. *Journal of Nature Studies*. 16 (2): 66-83

SATO, Y.; HORI, K. High-mannose N-glycan-specific lectin from the red alga *Kappaphycus striatum* (Carrageenophyte). **Phytochemistry**, v. 72, n. 9, p. 855-861, 2011.

SEIDLER, J.; ZINN, N.; BOEHM, M. E.; LEHMANN, W. D. De novo sequencing of peptides by MS/MS. **Proteomics**, v. 10, n. 4, p. 634-649, 2010.

SELL, A. M. Atividades biológicas das lectinas PHA, WGA, jacalina e artocarpina. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 22, p. 297-303, 2000.

SENTHILKUMAR, D.; JAYANTHI, S. Partial characterization and anticancer activities of purified glycoprotein extracted from green seaweed *Codium decortatum*. **Journal of Functional Foods**, v. 25, p. 323-332, 2016.

SHAH, S. A. A.; AKHTER, N.; AUCKLOO, B. N.; KHAN, I.; LU, Y.; WANG, K.; GUO, Y. W. Structural diversity, biological properties and applications of natural products from cyanobacteria. A review. **Marine drugs**, v. 15, n. 11, p. 354, 2017.

SHARMA, P.; SHARMA, N. Industrial and biotechnological applications of algae: a review. **Journal of Advances in Plant Biology**, v. 1, n. 1, p. 01, 2017.

SHARON, N. Lectins: past, present and future1. **Biochemical Society Transactions**, v. 36, n. 6, p. 1457-1460, 2008.

SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, v. 14, n. 11, p. 53R-62R, 2004.

SHEEHAN, S. A.; HAMILTON, K. L.; RETZBACH, E. P.; BALACHANDRAN, P.; KRISHNAN, H.; LEONE, P.; GOLDBERG, G. S. Evidence that *Maackia amurensis* seed lectin (MASL) exerts pleiotropic actions on oral squamous cells to inhibit SARS-CoV-2 infection and COVID-19 disease progression. **Research Square**, 2020.

SHERWOOD, A. R.; KURIHARA, A.; CONKLIN, K. Y. Molecular diversity of *Amansieae* (Ceramiales, Rhodophyta) from the Hawaiian Islands: a multi - marker assessment reveals high diversity within *Amansia glomerata*. **Phycological Research**, v. 59, n. 1, p. 16-23, 2011.

SHEVCHENKO, A.; TOMAS, H.; HAVLI, J.; OLSEN, J.V.; MANN, M. In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes. **Nature protocols**, v. 1, n. 6, p. 2859-2860, 2007.

SILVA, L. M. C. M.; LIMA, V.; HOLANDA, M. L.; PINHEIRO, P. G.; RODRIGUES, J. A. G.; LIMA, M. E. P.; BENEVIDES, N. M. B. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of lectin from marine red alga *Pterocladia capillacea*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, n. 5, p. 830-835, 2010.

SILVA, S. R. Estrutura primária e análise do potencial biotecnológico de uma lectina da alga marinha vermelha *Amansia multifida* J.V. lamouroux. 2016. 89 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Pesca)-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

SINGH, K.; RUP, P. J.; SAXENA, A. K.; KHAN, R. H.; ASHRAF, M. T.; KAMBOJ, S. S.; SINGH, J. A tuber lectin from *Arisaema helleborifolium* Schott with anti-insect activity against melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) and anti-cancer effect on human cancer cell lines. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 445, n. 1, p. 156-165, 2006.

SINGH, R.S.; THAKUR, S.R.; BANSAL, P. Algal lectins as promising biomolecules for biomedical research. **Critical reviews in microbiology**, v. 41, n. 1, p. 77-88, 2015.

SINGH, R. S.; WALIA, A. K. Lectins from red algae and their biomedical potential. **Journal of applied phycology**, v. 30, n. 3, p. 1833-1858, 2018.

SINGH, S.; SINGH, G.; ARYA, S. K. Mannans: An overview of properties and application in food products. **International journal of biological macromolecules**, v. 119, p. 79-95, 2018.

SOHRAB, S. S.; SUHAIL, M.; KAMAL, M. A.; AHMAD, F.; AZHAR, E. The emergence of human pathogenic coronaviruses: Lectins as antivirals for sars-cov-2. **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, n. 41, p. 5286-5292, 2020.

SOUZA, B. W. S.; ANDRADE, F. K.; TEIXEIRA, D. I. A.; MANSILLA, A.; FREITAS, A. L. P. Haemagglutinin of the antarctic seaweed *Georgiella confluens* (Reinsch) Kylin: isolation and partial characterization. **Polar biology**, v. 33, n. 10, p. 1311-1318, 2010.

SURYA, S.; HARIDAS, M. A New Galactose-Specific Lectin from *Clerodendrum infortunatum*. **Iranian journal of biotechnology**, v. 16, n. 4, 2018.

SUTTISRISUNG, S.; SENAPIN, S.; WITHYACHUMNARNKUL, B.; WONGPRASERT, K. Identification and characterization of a novel legume-like lectin cDNA sequence from the red marine algae *Gracilaria fisheri*. **Journal of biosciences**, v. 36, n. 5, p. 833-843, 2011.

TAN, L. T.; PHYO, M. Y. Marine cyanobacteria: A source of lead compounds and their clinically-relevant molecular targets. **Molecules**, v. 25, n. 9, p. 2197, 2020.

TAKAHASHI, K.; EZEKOWITZ, R. Alan B. The role of the mannose-binding lectin in innate immunity. **Clinical infectious diseases**, v. 41, n. Supplement_7, p. S440-S444, 2005.

TEIXEIRA, E. H.; NAPIMOGA, M. H.; CARNEIRO, V. A.; DE OLIVEIRA, T. M.; NASCIMENTO, K. S.; NAGANO, C. S.; SOUZA, J. B.; HAVT, A.; PINTO, V. P.T.; GONÇALVES, R. B.; FARIAS, W. R. L.; SAKER-SAMPAIO, S.; SAMPAIO, A. H.; CAVADA, B. S. In vitro inhibition of oral streptococci binding to the acquired pellicle by algal lectins. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, n. 4, p. 1001-1006, 2007.

THANH, T. T. T.; QUACH, T. M. T.; NGUYEN, T. N.; LUONG, D. V.; BUI, M. L.; VAN TRAN, T. T. Structure and cytotoxic activity of ulvan extracted from green seaweed *Ulva lactuca*. **International journal of biological macromolecules**, v. 93, p. 695-702, 2016.

THAKUR, N.L.; THAKUR, A.N. Marine biotechnology: an overview. 2006.

TOTTI, C. M.; ACCORONI, S.; BARUCCA, M.; BIANCHELLI, S.; BISCOTTI, M. A.; CALCINAI, B.; CANAPA, A.; CORINALDESI, C.; DANOVARO, R.; CAMILLO, C. G.; FANELLI, E.; GAMBI, C.; PUCE, S.; ROMAGNOLI, T.; CERRANO, C. Marine Biology. Biodiversity and functioning of marine ecosystems: scientific advancements and new perspectives for preserving marine life. In: **The First Outstanding 50 Years of “Università Politecnica delle Marche”**. Springer, Cham, 2020. p. 447-462.

TRAUGER, S. A.; WEBB, W.; SIUZDAK, G. Peptide and protein analysis with mass spectrometry. *Spectroscopy*, v. 16, n. 1, p. 15-28, 2002.

TRINH, P. T. H. Structure and anticancer activity of a new lectin from the cultivated red alga, *Kappaphycus striatus*. **Journal of natural medicines**, v. 75, n. 1, p. 223-231, 2021.

TYAGI, R.; AGARWAL, R.; GUPTA, M. N. Purification of peanut lectin using guar gum as an affinity ligand. **Journal of biotechnology**, v. 46, n. 2, p. 79-83, 1996.

VANKADARI, N.; WILCE, J. A. Emerging COVID-19 coronavirus: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26. **Emerging microbes & infections**, v. 9, n. 1, p. 601-604, 2020.

VARMA, R.; VASUDEVAN, S. Extraction, Characterization, and Antimicrobial Activity of Chitosan from Horse Mussel *Modiolus modiolus*. **ACS omega**, v. 5, n. 32, p. 20224-20230, 2020.

WAGHMODE, A. V. Diversity and distribution of seaweeds from the west coast of Maharashtra. **J. Algal Biomass Utln**, v. 8, n. 3, p. 29-39, 2017.

WALLS, A. C.; PARK, Y. J.; TORTORICI, M. A.; WALL, A.; MCGUIRE, A. T., VEESLER, D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. **Cell**, v. 181, n. 2, p. 281-292. e6, 2020.

WATANABE, Y.; NAGANUMA, T.; OGAWA, T.; MURAMOTO, K. Lectins of marine origin and their clinical applications. In: **Antitumor potential and other emerging medicinal properties of natural compounds**. Springer, Dordrecht, 2013. p. 33-54.

WIEMER, D. F.; IDLER, D. D.; FENICAL, W. Vidalols A and B, new anti-inflammatory bromophenols from the Caribbean marine red alga *Vidalia obtusiloba*. **Experientia**, v. 47, n. 8, p. 851-853, 1991.

WIJFFELS, R. H. Potential of sponges and microalgae for marine biotechnology. **Trends in biotechnology**, v. 26, n. 1, p. 26-31, 2008.

WU, M.; TONG, C.; WU, Y.; LIU, S.; LI, W. A novel thyroglobulin-binding lectin from the brown alga *Hizikia fusiformis* and its antioxidant activities. **Food chemistry**, v. 201, p. 7-13, 2016.

XIONG, C.; LI, W.; LIU, H.; ZHANG, W.; DOU, J.; BAI, X.; DU, Y.; MA, X. A normal mucinbinding lectin from the sponge *Craniella australiensis*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 143, n. 1, p. 9-16, 2006.

YAMASHITA, M.; FENN, J. B. Electrospray ion source. Another variation on the free-jet theme. *The Journal of Physical Chemistry*, v. 88, n. 20, p. 4451-4459, 1984.

YOON, H. S.; NELSON, W.; LINDSTROM, S. C.; BOO, S. M.; PUESCHEL, C.; QIU, H.; BHATTACHARYA, D. Rhodophyta. In: **Handbook of the Protists: Second Edition**. Springer International Publishing, 2017. p. 89-133.

ZHANG, M.; LIU, Y.; SONG, C.; NING, J.; CUI, Z. Characterization and functional analysis of a novel mannose-binding lectin from the swimming crab *Portunus trituberculatus*. **Fish & shellfish immunology**, v. 89, p. 448-457, 2019.

ZHANG, W.; BOUWMAN, K. M.; VAN BEURDEN, S. J.; ORDONEZ, S. R.; VAN EIJK, M.; HAAGSMAN, H. P.; VERHEIJE, H.; VELDHUIZEN, E. J. Chicken mannose binding lectin has antiviral activity towards infectious bronchitis virus. **Virology**, v. 509, p. 252-259, 2017.

ZUBIA, M.; FABRE, M. S.; KERJEAN, V.; LE LANN, K.; STIGER-POUVREAU, V.; FAUCHON, M.; DESLANDES, E. Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany coasts. **Food chemistry**, v. 116, n. 3, p. 693-701, 2009.

ZUBIA, M. Marine algae in French Polynesia: from traditions to innovations. In: **23rd International Seaweed Symposium**. 2019.