

刘 帅,贾赵东,谢一芝,等.凝集素及其抗病毒功能研究进展[J].江苏农业科学,2023,51(18):1-12.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.18.001

凝集素及其抗病毒功能研究进展

刘 帅,贾赵东,谢一芝,马佩勇,禹 阳,张 铅,边小峰

(江苏省农业科学院粮食作物研究所,江苏南京 210014)

摘要:凝集素是一种可识别特异碳水化合物的蛋白质。随着科学技术的发展和进步,研究人员对数百种凝集素的结构、生物活性和功能作用等方面进行了大量的研究,尤其是凝集素抗各类病毒的功能,应用前景十分广阔,越来越受到人们的重视。本文综述了凝集素在抗病毒功能、机制等方面的研究现状,阐述了几种研究最为广泛的微生物凝集素和植物凝集素的抗病毒机制,如红藻凝集素、蓝藻凝集素、微囊藻凝集素、雪花莲凝集素及香蕉凝集素等;重点介绍了凝集素抗病毒功能在抗动物病毒与植物病毒中的应用,及外源表达凝集素的研究进展,同时展望了凝集素的研究应用前景和发展趋势。

关键词:微生物凝集素;植物凝集素;抗病毒活性;抗病毒机制

中图分类号:S432.2⁺3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)18-0001-11

凝集素是一类具有特殊分子结构的蛋白质,通常具有识别和结合碳水化合物的能力,并且在不改变碳水化合物部分的情况下具有特异性和可逆性^[1]。1888年,Stillmark报道了第一种凝集素——蓖麻毒素(Ricin),是从蓖麻(*Ricinus communis* L.)种子中提取的有毒蛋白质^[2]。1975年,Becker等报道了刀豆凝集素(ConA)的分子结构和生物功能,就此将凝集素的研究带入一个具有发展潜力的新领域^[2]。基于凝集素对特异碳水化合物的识别与结合特性,研究人员发现凝集素不仅在信号传导、免疫反应、植物防御等方面发挥了重要作用,同时具有抗病虫害、抗病毒病、诱导细胞凋亡等能力,在防虫抗病、生物制药、医学检测等方面具有十分广阔的应用前景,尤其是凝集素抗各类病毒的研究越来越受到人们的重视。

1 凝集素的分类

目前,研究者陆续鉴定出超过了1 000多种凝

集素^[2]。起初, van Damme 等根据亚基结构的特异性将凝集素分为了4大类,分别是嵌合凝集素、超凝集素、全凝集素及部分凝集素^[1]。从20世纪70年代开始,人们对凝集素的研究主要集中在蛋白质的特性及其与糖结合的特异性上,因此,凝集素又被分为:*N*-乙酰氨基半乳糖凝集素、*D*-甘露糖或*D*-葡萄糖凝集素、*N*-乙酰氨基葡萄糖凝集素、*D*-半乳糖凝集素、*L*-岩藻糖凝集素及唾液酸凝集素^[3],其中,只有唾液酸凝集素中是不包括植物凝集素的。虽然这种分类有一定的实际用途,但很快发现这类分类方式很难维持下去。随着越来越多的凝集素被发现,凝集素的分类也在不断变化,并且更加复杂。1998年,在综合分析植物凝集素序列的基础上建立了一个系统,将所有植物凝集素的大部分划分为7个结构和进化相关的蛋白质家族。然而,随着现代分子生物学技术的深入发展,这种分类方式已不能完全覆盖所有植物凝集素。因此,目前大家最认可的凝集素或植物凝集素分类方式是依据序列相似性及其之间的进化关系进行的分类,主要包括12个家族^[4-6],分别为双孢蘑菇家族(*ABA families*),具有双孢蘑菇同源结构域(*Agaricus bisporus* homolog domain),代表物种有双孢蘑菇^[7]、沙雷氏菌^[8];苋属植物凝集素家族(*amaranthins families*),具有苋属植物结构域(*amaranthins domain*),代表物种有千穗谷^[9]、尾穗苋^[10];几丁质酶相关蛋白家族(*CRA families*),具有几丁质酶同源结构域(*homolog of class V chitinases domain*),代表

收稿日期:2022-11-24

基金项目:国家自然科学基金(编号:32101787);国家甘薯产业技术体系建设专项(编号:CARS-10);江苏省种业振兴揭榜挂帅项目(编号:JBGS[2021]010-2);江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(22)2012]。

作者简介:刘 帅(1992—),男,江苏盐城人,博士,助理研究员,主要从事甘薯遗传育种研究。E-mail:598045053@qq.com。

通信作者:边小峰,博士,副研究员,主要从事甘薯遗传育种研究。E-mail:43537920@qq.com。

物种有 苦 瓜^[11]；雪 花 莲 家 族 (*Galanthus nivalis* agglutinin families) 具有雪花莲结构域 (*Galanthus nivalis* agglutinin domain) , 代表物种有雪花莲^[12]、黄精^[13-14]、朱顶红^[15-16]、对叶兰^[17-20]、火烧兰^[16-19]；卫欧矛家族 (*Euonymus europaeus* families) 具有卫欧矛凝集素结构域 (*Euonymus europaeus* lectins domain) , 代表物种有大果卫矛^[14,21]；蓝藻凝集素家族 (Cyanovirin families) 具有蓝藻凝集素结构域 (Cyanovirin domain) , 代表物种有蓝藻^[22-23]；豆科植物家族 (Legume families) 具有豆科凝集素结构域 (Legume domain) , 代表物种有苜蓿^[24]；橡胶蛋白家族 (Hevein families) , 具有橡胶凝集素结构域 (Hevein domain) , 代表物种有橡胶树^[25]、辣木^[26]、

马铃薯^[27]；具有赖氨酸基序的蛋白 (Lysin Motif families) , 具有赖氨酸基序的凝集素结构域 (Lys M domain) , 代表物种有蒺藜状苜蓿^[28]；烟草凝集素家族 (Nictaba - like families) , 具有烟草凝集素结构域 (Nictaba - like domain) , 代表物种有烟草^[29]；蓖麻毒蛋白 - B 家族 (Ricin - B families) , 具有蓖麻毒蛋白 - B 结构域 (Ricin - B domain) , 代表物种有蓖麻^[30]、荨麻^[14,21,31-32]、放线菌^[33]、豇豆^[34]；木菠萝家族 (Jacalin families) , 具有木菠萝凝集素结构域 (Jacalin domain) , 代表物种有水稻^[35]、小麦^[36]、大麦^[37-38]、甘薯^[39]、菠萝蜜^[40]、花萼草^[41]、红藻^[36,42-50]等 (表 1) 。

表 1 凝集素依据序列相似性及其之间的进化关系分类

凝集素家族	结构域	成员
双孢蘑菇家族	双孢蘑菇同源结构域	双孢蘑菇 ^[7] ；沙雷氏菌 ^[8]
苋属植物凝集素家族	苋属植物结构域	千穗谷 ^[9] ；尾穗苋 ^[10]
几丁质酶相关蛋白家族	几丁质酶同源结构域	苦瓜 ^[11]
雪花莲家族	雪花莲结构域	雪花莲 ^[12] ；黄精 ^[13-14] ；朱顶红 ^[15-16] ；对叶兰 ^[17-20] ；火烧兰 ^[16-19]
卫欧矛家族	卫欧矛凝集素结构域	大果卫矛 ^[14,21]
蓝藻凝集素家族	蓝藻凝集素结构域	蓝藻 ^[22-23]
豆科植物家族	豆科凝集素结构域	苜蓿 ^[24]
橡胶蛋白家族	橡胶凝集素结构域	橡胶树 ^[25] ；辣木 ^[26] ；马铃薯 ^[27]
具有赖氨酸基序的蛋白	具有赖氨酸基序的凝集素结构域	蒺藜状苜蓿 ^[28]
烟草凝集素家族	烟草凝集素结构域	烟草 ^[29]
蓖麻毒蛋白 - B 家族	蓖麻毒蛋白 - B 结构域	蓖麻 ^[30] ；荨麻 ^[14,21,31-32] ；放线菌 ^[33] ；豇豆 ^[34]
木菠萝家族	木菠萝凝集素结构域	水稻 ^[35] ；小麦 ^[36] ；大麦 ^[37-38] ；甘薯 ^[39] ；菠萝蜜 ^[40] ；花萼草 ^[41] ；红藻 ^[36,42-50] ；香蕉 ^[14,17,21,32,51-53]

2 凝集素抗病毒功能

与特异碳水化合物结合的特性是凝集素具有抗病毒能力的主要原因^[16,49,54-55]。凝集素抗病毒活性主要是通过结合存在于病毒包膜糖蛋白上的聚糖来阻止病毒传播和渗透,或通过与病毒表面的聚糖产生交联,阻止受体与其相互作用。那是否意味着不同凝集素抗病毒活性与其结合不同种类糖基的特异性相关? 通过整理研究发现,大多数被证实具有抗病毒活性的凝集素均能结合甘露糖,如红藻凝集素、兰花凝集素和朱顶红混合凝集等;仅有少部分是结合 *N* - 乙酰氨基葡萄糖 (如大果卫矛凝集素等) 和 *N* - 乙酰氨基半乳糖 (如麒麟菜凝集素等) ;也有凝集素具有多种糖结合活性,如菠萝蜜凝集素可同时识别 *D* - 半乳糖和 *N* - 乙酰氨基半乳

糖;而其他糖结合活性的凝集素抗病毒活性研究尚未报道。因此,依靠与不同糖结合活性对凝集素抗病毒活性进行分类的方式并不合适。

由于基因工程技术的不断发展,基于亚基结构特异性分类的方式已不再适用于凝集素,因此,笔者重点关注了基于同源性分类的模式下,不同家族抗病毒活性的分布。通过研究发现,基于同源性分类的凝集素对病毒的抗性并不一致,如红藻凝集素 (GRFT) 和木菠萝凝集素 (Jacalin) 均属于木菠萝家族,具有 Jacalin domain,但 GRFT 可抗 PRRSV、HCV、JEV、HIV、HSV 等多种病毒^[36,42-48,50],而木菠萝凝集素只被证实可抑制 HIV 病毒^[14,16,17,49,51] (表 2) 。同样,不同家族的凝集素也可能具有相同抗病毒功能,如豆科植物家族中的兰花凝集素 (CA)^[14,15,17-20]与蓖麻毒蛋白 - B 家族中的荨麻属

表 2 凝集素抗病毒功能

凝集素	抗病毒	聚糖特异性	参考文献
红藻凝集素 (GRFT)	PRRSV; SARS – CoV; MERS – CoV; HCV; JEV; PEDV; HSV – 1; HSV – 2; HIV; HPV	甘露糖; 葡萄糖; <i>N</i> – 乙酰葡萄糖胺	[36, 42 – 50]
蓝藻凝集素 (CV – N)	HCV; HSV – 1; HSV – 2; HIV; Ebola; SIV; H1N1	甘露糖 – 8; 甘露糖 – 9	[14, 17, 21, 51, 56 – 58]
绿色微囊藻凝 (MVL)	HCV; HIV	甘露糖 – 6 – 2 (<i>N</i> – 乙酰氨基葡萄糖	[14, 59]
雪花莲凝集素 (GNA)	HCV; Coronavirus	α – 1 – 3 甘露糖; α – 1 – 6 甘露糖; 甘露糖; 甘露糖寡糖; 高甘露糖 <i>N</i> – 聚糖	[17, 59]
兰花凝集素 (CA)	HCV; Coronavirus; HIV1; CMV; RSV; H1N1	甘露糖	[14 – 15, 17 – 20]
朱顶红混合凝集 * (HHA)	HCV; Coronavirus	α – (1, 3) 甘露糖; α – (1, 6) – 甘露糖低聚物	[15 – 16]
麒麟菜凝集素 (ESA – 2)	Influenza	高甘露糖 <i>N</i> – 聚糖	[60]
卡帕藻凝集素 (KAA – 2)	Influenza; H1N1	α – 1 – 3 连接的甘露糖	[61 – 64]
布多藻凝集素 (BCA)	Influenza; HIV; H1N1	α – 1 – 2 连接的甘露糖	[62 – 65]
水仙凝集素 (NTL)	Influenza	甘露糖	[66]
菠萝蜜凝集素 (JFL)	HSV – 1; HSV – 2	<i>D</i> – 半乳糖; β – 1, 3 – <i>N</i> – 乙酰氨基半乳糖	[40]
犁头尖凝集素 (TDA)	HSV – 1; HSV – 2	甘露糖	[67]
玉竹凝集素 (POL)	HSV – 1; HSV – 2	甘露糖	[68]
荨麻凝集素 (UDA)	Coronavirus; HIV; CMV; RSV; H1N1; SARS – CoV	<i>N</i> – 乙酰葡萄糖胺 4	[14, 21, 31 – 32]
香蕉凝集素 (BanLec)	HIV; HCV	α – 1, 6 甘露四糖; α – <i>D</i> 甘露糖/糖基; α – 1, 3 甘露糖; β – 1, 3 – 葡萄糖基	[14, 17, 21, 32, 51 – 53]
放线菌素 (AH)	HIV	高甘露糖	[33]
蓝藻铜绿微囊藻凝集素 (MVN)	HIV	甘露糖	[69]
铁线莲凝集素	CPV; HSV; VSV	α – 1, 6 – 甘露糖	[70]
刀豆凝集素 (ConA)	HIV; HSV	α – <i>D</i> 甘露糖基; α – <i>D</i> 葡萄糖基	[14, 17, 21, 51]
黄精凝集素 (PCL)	HIV	α – 1, 3 – 甘露二糖	[14]
大果卫矛凝集素 (MHL)	HIV1	<i>N</i> – 乙酰葡萄糖胺; 甘露糖	[14, 21]
蓝铃花凝集素 (SCL)	HIV	α (1, 3; 1, 6) – 甘露三糖	[14]
火烧兰凝集素 (EHA)	HIV1; CMV; RSV; H1N1	甘露糖	[16 – 19]
对叶兰凝集素 (LOA)	HIV1; CMV; RSV; H1N1	甘露糖	[17 – 20]
阿氏颤藻凝集素 (OAA)	HIV1; HIV2	甘露糖 – 9	[21, 62, 71]
蓝细菌 (SVN)	HIV1; Ebola	甘露糖 – 低聚糖	[14, 21, 71]
木菠萝凝集素 (Jacalin)	HIV	β – 1, 3 – 葡萄糖; α – 1, 6 – 葡萄糖; <i>N</i> – 乙酰葡萄糖胺; 甘露糖	[14, 16, 17, 51]
普通小麦凝集素 (WGA)	SARS – CoV	<i>N</i> – 乙酰 – <i>D</i> – 葡萄糖胺/ <i>N</i> – 乙酰 – <i>D</i> – 甘露糖胺丙酮酸	[36]
大麦凝集素 (Horcolin)	HIV	甘露糖	[37 – 38]

注: 博拉病毒 (Ebola); 丙型肝炎病毒 (HCV); 单纯疱疹病毒 1 (HSV – 1); 单纯疱疹病毒 2 (HSV – 2); 冠状病毒 (Coronavirus); 猴免疫缺陷病毒 (SIV); 呼吸道合胞病毒 (RSV); 甲型流感病毒 (H1N1); 巨细胞病毒 (CMV); 猪繁殖与呼吸综合征病毒 (PRRSV); 严重急性呼吸窘迫综合征冠状病毒 (SARS – CoV); 中东呼吸综合征冠状病毒 (MERS – CoV); 日本脑炎病毒 (JEV); 猪流行性腹泻病毒 (PEDV); 人类免疫缺陷病毒 (HIV); 流行性感冒病毒 (Influenza); 牛痘病毒 (CPV); 人乳头瘤病毒 (HPV); 水泡口炎病毒 (VSV)。

凝集素 (UDA)^[14, 21, 31, 32]。抗病毒的活性上, 这极大地限制了研究人员对不同凝集素抗病毒活性的研究。因此, 笔者将通过凝集

综上所述, 目前对凝集素的分类都无法对应在

素的抗病毒机制来分析这些凝集素抗病毒能力的关联性。

3 凝集素抗病毒的作用机制

3.1 红藻凝集素抗病毒机制

红藻凝集素 (Griffithsin, GRFT) 是一种从海洋红藻 (*Griffithsia* sp.) 中分离的高甘露聚糖结合凝集素, 被认为是迄今为止最有效的 HIV 感染抑制剂^[73]。该蛋白包含 121 个氨基酸, 折叠成稳定的结构域交换的同二聚体, 以高甘露寡糖末端的甘露糖残基为靶点, 每个同源二聚体共有 6 个碳水化合物结合位点^[74-75], 这可能也是其高效抗各种病毒的原因之一。由表 2 可知, GRFT 制剂是目前研究最为广泛的抗病毒药物, 它可抗 PRRSV、HIV、HCV、JEV 及 HSV 等多种病毒。其中, GRFT 使 HIV-1 的失活几乎在接触病毒后立即发生^[76]; 首先, GRFT 通过选择性结合病毒包膜糖蛋白上富含甘露糖的聚糖 gp120 来抑制 HIV 与淋巴细胞表面的 CD4 结合^[50,77-78]; 同时, GRFT 还可抑制树突状细胞 (DC-SIGN) 与 HIV-1 的结合, 从而防止病毒侵染靶细胞^[1,73]。而 GRFT 作用于丙型肝炎病毒 (Hepatitis C virus, HCV) 生命周期的早期阶段, 通过干预病毒包膜蛋白 E2 和病毒受体 CD81 之间的相互作用, 以一种基因型独立的方式发挥作用^[43]。GRFT 还能够抑制 SARS-CoV, 但与前 2 种识别蛋白不同的是, GRFT 结合 SARS-CoV 表面糖蛋白 S, 但不影响病毒识别 Vero 细胞表面受体^[57]。另外, GRFT 还可通过阻断细胞间的扩散来抑制 HSV-2 进入后的感染, 但不影响病毒入侵细胞^[79]。也有研究显示, GRFT 通过与 HPV 受体整合素 $\alpha 6$ 结合, 从而抑制 HPV 的内化阶段^[47-48]。目前, 最新研究表明, GRFT 抗病毒的途径也有多种, 但最主要的还是通过与囊膜病毒表面的糖蛋白结合, 进而抑制病毒感染传播^[80]。对 GRFT 安全性进一步研究表明, 尽管它可以结合人的鳞状上皮细胞和外周血单核细胞, 但是细胞和组织在 GRFT 浸染时未表现出显著的炎症反应, 且 GRFT 保持了抗病毒活性。因此, GRFT 是目前临床上用于预防多种病毒的主要凝集素候选药物^[54]。

3.2 蓝藻凝集素抗病毒机制

蓝藻凝集素 (Cyanovirin-N, CV-N) 首次是从蓝藻 *Nostoc ellipsosporum* 中分离得到的凝集素。CV-N 由 101 个氨基酸组成, 分子量为 11 ku, 含有

2 个碳水化合物结合位点, 可特异识别 $\alpha-1,2$ -高甘露糖的末端^[81]。CV-N 抑制病毒复制的方式有干扰细胞与细胞膜融合、干扰病毒与细胞的吸附以及抑制病毒在细胞与细胞之间的传播, 其中最主要的方式是阻断感染病毒的细胞对其他细胞的侵染。研究表明, CV-N 在低纳米摩尔范围内对 HIV-1 和 HIV-2、猿类免疫缺陷病毒 (SIV) 和 H1N1^[82] 等多种病毒具有广泛的中和活性, 并且对 HCV、HSV-1、HSV-2 及 Ebola 等病毒也具有一定的抑制作用^[83-85]。而 CV-N 这种广泛的抗病毒活性是由于对 gp120 具有高亲和性^[86]。由于 CV-N 的 2 个碳水化合物结合位点与 Man9GlcNAc2 具有极高的亲和性, 而 Man9 和 Man8 是 gp120 上常见的高甘露糖末端, 因此, CV-N 很容易与 gp120 结合从而抑制病毒与初级受体细胞 CD4 结合^[87-88]。然而, CV-N 在抑制病毒的过程中还会导致细胞活化, 产生有丝分裂原性, 并增加人类 PMBC 细胞激素的产生^[89], 这使得 CV-N 在抗病毒应用上存在一定的限制。

3.3 微囊藻凝集素抗病毒机制

微囊藻凝集素 (Microvirin, MVN) 是一种从铜绿微囊藻 (*Nostoc ellipsosporum*) 中分离得到凝集素, 含有 108 个氨基酸, 分子量为 14.3 ku。MVN 与 CV-N 均属于 Cyanovirin 家族蛋白, 有 33% 的同一性, 且 MVN 保留了相似的糖水化合物结合结构, 因此 MVN 也能特异识别 $\alpha-1,2$ -高甘露糖的末端^[90]。与 CV-N 一样, 低纳米摩尔浓度的 MVN 能够广泛地中和 HIV-1 的病毒株, 同时可抑制 HIV-1 与初级受体细胞 CD4 结合。但 MVN 在溶液中的表现形式是单体, 并且其仅有 1 个碳水化合物结合位点可识别 $\alpha-1,2$ -甘露糖末端, 由于其不能形成二聚体结构, 因此, 仅能识别 Man8GlcNAc2 而不能识别更复杂的寡糖结构^[91]。研究显示, MVN 对 HIV-1 的抑制与 CV-N 具有同样的效力, 但毒性比 CV-N 低 50 倍, 因此是一种非常有发展潜力的抗病毒凝集素^[69]。

3.4 雪花莲凝集素抗病毒机制

雪花莲凝集素 (*Galanthus nivalis* agglutinin, GNA) 最初是从雪花莲 (snowdrop bulbs) 中分离出来的凝集素, GNA 是由 4 个单体非共价结合组成的四聚体 (50 ku), 每个单体 12.5 ku, 其特殊的空间结构使得 GNA 对 Man α (1-3) 寡核苷酸具有特异的亲和性, 而对单糖的结合能力较弱^[92-94]。目前, 大多

数抗 HIV 病毒的凝集素来源于 GNA 家族,如黄精凝集素 PCL、朱顶红混合凝集素 HHA、对叶兰凝集素 LOA、火烧兰凝集素 EHA 等^[95-100]。GNA 抑制病毒的方式主要有 2 种:(1)阻断病毒进入且融合目标细胞。GNA 通过与 gp120 结合导致空间位阻,从而阻止与共受体的进一步相互作用,阻断病毒进入/融合到靶细胞^[95,101-102]。(2)阻断病毒的传播。阻止感染病毒的细胞与未感染的细胞结合,抑制树突状细胞引起的 HIV 感染^[102-103]。

3.5 香蕉凝集素抗病毒机制

香蕉凝集素(banana lectin, BanLec)是从香蕉果实中分离出的凝集素,是 Jacalin 相关凝集素家族的一员,对高甘露糖结构也有亲和力。天然的香蕉凝集素是由 2 个 15 ku 的相同亚基组成的二聚体,亚基含有 141 个氨基酸^[104]和 2 个糖结合位点^[105]。研究表明,IC₅₀值在低纳米摩尔范围内,BanLec 对不同取向的 HIV-1 分离株具有体外抑制作用。与上述其他碳水化合物结合蛋白类似,BanLec 通过与高度糖基化的 gp120 上的高甘露糖结构结合,以浓度依赖性的方式抑制 HIV 感染,从而防止病毒附着在细胞上。Swanson 等也报道了 BanLec 是小鼠 T 细胞的一种有效的有丝分裂原,然而有趣的是,BanLec 糖结合位点突变后显著降低了其有丝分裂活性,但不影响其对 HIV 的中和作用^[52]。因此,该凝集素也被作为一个有潜力的 HIV 病毒抑制剂被开发。

3.6 其他凝集素抗病毒机制

除上述几种研究比较广泛的凝集素,目前,越来越多的凝集素被证明具有抗病毒活性,但它们的抗病毒强度与生物毒性并不一致,而这些差异与他们的空间结构有着很大关系。如,蓖麻毒蛋白-B 家族中的放线菌素(Actinohivin, AH)也是一种抗 HIV 的凝集素,从放线菌 *Longispora albida* 的培养液中分离得到^[106]。该蛋白是一个分子量为 12.5 ku 的单一多肽,含有 114 个氨基酸,形成 3 个具有 LD-QXW 的基序^[107-108],这一特异性使得 AH 结合多种高甘露糖型聚糖^[89]。与 CV-N 不同的是, AH 不表现出细胞病变或有丝分裂的影响,并且其抗病毒活性十分稳定^[33]。麻毒蛋白-B 家族中荨麻凝集素 UDA 也是一种广泛的抗病毒凝集素,其对冠状病毒、HIV、CMV、RS、H1N1 及 SARS-COV 等多种病毒均有抑制作用^[14,21,31]。而在各类凝集素中,雪花莲家族凝集素的抗病毒能力尤为突出。许多研究成果表明,该家族对于多种病毒均具有较好

的抗性,如朱顶兰凝集素^[109]。在抗 HIV 的过程中,朱顶兰凝集素能通过截断传染源,干扰传播途径,及有效地清除感染 HIV 细胞等方式抑制多种 HIV 变异株系^[110]。雪花莲家族中的多个凝集素还能与 H1N1 病毒高效结合,在预防和治疗流感病毒方面具有较好的应用前景^[111]。一些大型真菌中的凝集素也具有抗病毒功能,如猴头菇、双孢蘑菇、美味牛肝菌、蛹虫草、红菇中提取的凝集素能显著消减 HIV-1 逆转录酶的转录活性,从而抑制病毒增殖,达抗病毒的效果^[112-115];此外,榆黄蘑凝集素还有抗人类疾病病毒的活性,体外试验表明,榆黄蘑凝集素对乙肝病毒的活性有显著影响^[116]。当然,现在也有许多凝集素家族的蛋白其抗病毒活性及抗病毒机理仍是未知,需要进一步探索、开发与研究。

4 凝集素抗病毒功能的应用进展

根据病毒寄生的宿主不同,通常把病毒分为植物病毒、动物病毒和细菌病毒(噬菌体)。目前,凝集素抗病毒功能的研究主要集中在动物病毒,而抗植物病毒的研究却很少,主要是因为植物病毒没有包膜结构(包膜结构大都包含病毒糖蛋白),而凝集素抗病毒功能主要是由于其与碳水化合物的特异性结合。

4.1 抗动物病毒

由于临床应用的重要性及潜在价值,目前,大多数凝集素抗病毒研究主要集中在 HIV 上。然而,基于其可靶向许多包膜病毒表面糖基化蛋白的作用机制,抗 HIV 凝集素已被广泛用来评估其对其他包膜病毒的作用。如丙型肝炎病毒 HCV,20% 感染 HIV 的患者也会感染 HCV^[117]。HCV 有 2 种高度糖基化的糖蛋白,包括 E1 和 E2^[118],其中,许多糖基化位点是高甘露糖型聚糖^[119]。目前,GRFT 已被证明可在体内减轻小鼠感染 HCV 的症状^[43,44];也有研究表明, CV-N、微囊藻凝集素(MVL)和雪花莲凝集素(GNA)等可体外抑制 HCV。可能是由于存在不同而复杂的作用模式,这些凝集素抗 HCV 的效力也不相同^[59,120]。再如流感病毒,来自红藻 *Kappaphycus alvarezii* 的凝集素(KAA-2)通过直接结合病毒包膜上的血凝素(HA)进入宿主细胞干扰病毒,从而抑制多种流感毒株的感染^[65]。类似地,从绿藻 *Boodlea coacta* (BCA) 中提取凝集素通过直接结合包括 H1N1-2009 在内的多个毒株的 HA,发挥了强大的抗流感作用^[65];此外其他凝集素,包括

ConA、HHA 等,在体外被证明可以抑制人类流感病毒^[121]。SARS 等冠状类病毒是目前危害人类健康最严重的病毒之一,而 GRFT 可以通过特异性结合 SARS 等冠状病毒(SARS-CoV)的刺突糖蛋白,在体外和体内预防 SARS 等冠状病毒的感染^[42,122]。中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)是另一种高致病性人类冠状病毒,GRFT 可在 MERS-CoV 感染初期预防体外感染从而抑制病毒^[45]。此外,凝集素 HHA、GNA、CA 和 UDA 在体外和/或体内均显示出对冠状病毒的抗病毒活性^[17,31,123]。因此,凝集素可被纳入对抗 SARS 等冠状病毒感染的抗病毒策略中^[124]。

也有研究表明,凝集素同样可抑制无包膜的动物病毒,如吐丝蜘蛛凝集素(AEL)对包膜的呼吸道合胞病毒有抗病毒作用;也对非包膜的病毒柯萨奇病毒 B4 有抗病毒作用。这表明凝集素可能也会针对其他病毒成分,而不是表面糖缀合物^[125]。

4.2 抗植物病毒

植物病毒没有包膜以及包膜蛋白上的聚糖,研究人员认为凝集素无法作用到植物病毒上,因此凝集素不能抑制植物病毒。近年来研究表明,凝集素同样也能抑制植物病毒,凝集素可与细胞壁上的糖蛋白或者细胞外聚糖相互作用,间接的抵御植物病毒的入侵。如一些豆科凝集素对细胞壁的胞壁肽聚糖极其敏感,反应后可阻断一些病毒的入侵;在一定浓度下,杨树菇凝集素可抑制烟草花叶病毒 TMV^[126];从马铃薯茎提取的凝集素能够区分青枯雷尔氏菌的无毒/毒性株系,避免毒性株系被吸附到胞壁上;绣球藤凝集素能够抑制水泡口炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)、牛痘病毒(vaccinia virus, CPV)和 HSV^[127];在土壤中,植物的种子容易被细菌侵袭,这时一些植物会在种子中释放凝集素,阻止有害细菌对根的侵袭^[127]。还有一些菌菇类凝集素也可抑制植物病毒,如卷边桩菇(*Paxillus involutus*)凝集素可抑制烟草花叶病毒的毒性^[128];茶树菇凝集素和榆黄蘑凝集素均具有抑制植物病毒(TMV)侵染的作用^[116,129]。然而,目前大多数凝集素抑制植物病毒的机理尚不明确,其在植物抗病病毒的应用仍需要进一步探索。

4.3 植物凝集素外源表达

基于凝集素广泛的抗病毒功能,研究如何提高凝集素的产出变得十分重要。因此,研究人员期望通过基因克隆和外源表达系统,开发出低成本、高

表达、易储存的重组凝集素,并简化凝集素的纯化过程,确保产品的安全性。尤其是 GRFT,因为其低生物毒性和广泛的抗病毒能力,已经在多种外源表达系统中被尝试。如基于 pET 表达载体的大肠杆菌表达系统^[130];基于烟草花叶病毒载体的烟草瞬时表达系统^[80,131-133];烟草叶绿体表达系统^[134];水稻胚乳表达系统^[135]等,其中,在植物中表达的凝集素被检测具有更强的抗病毒活性,且没有生物毒性^[80]。同样被外源表达的凝集素还有 CV-N、GNA、豌豆凝集素(pea lectin),包括细菌、酵母及烟草等转基因植物^[80,136-137]。到目前为止,水稻、玉米、烟草、大豆、油菜、甘薯、和葡萄等多种植物成功获得了转 GNA 基因的植株。从这些植株中提取纯化的凝集素可以极大地降低抗病毒药剂的生产成本,对人类抗病毒研究具有十分重要的意义。

5 小结与展望

凝集素高效广谱的抗病毒作用,源于其能特异结合不同的碳水化合物,不仅可结合病毒上的糖蛋白,也可结合靶细胞上的病毒受体。同时,机体免疫系统可通过响应凝集素而对病毒进行应激反应,产生相应的抗体以清除病毒。值得注意的是,一些凝集素具有细胞毒性和促进有丝分裂性,若在人体中使用,可能会导致严重的不良反应。大多数凝集素不是单特异性的,实际上可识别几种不同的糖类型,因此,那些在正常人类细胞表面发现的识别聚糖有可能会引发脱靶毒性^[21]。此外,凝集素还可刺激 T 淋巴细胞增殖分化产生 T 细胞。其中,效应 T 细胞可分泌出大量细胞因子杀伤病毒;而细胞毒 T 细胞可直接杀伤病毒。截止到目前为止,已经发现了近千种的凝集素,随着对凝集素的不断的探索,逐渐探明这些凝集素的蛋白质结构和功能、生物学特性及基因编码顺序等信息^[138]。通过持续对这些凝集素功能进行探索与研究,结合基因编辑技术、植物生物反应器及纳米技术等将对凝集素在生物学、医学和农业领域的应用具有重大意义。

5.1 通过基因编辑技术优化凝集素抗病毒功能

许多凝集素在抗病毒过程中同时具有细胞毒性和促进有丝分裂性,在动物或人体中使用具有一定的副作用。有研究表明,香蕉凝集素的突变体 H84T 不仅提高了其在体内的抗病毒活性,同时也去除了其有丝分裂原性^[53]。这表明通过基因编辑技术不仅可有效地降低抗病毒凝集素的副作用,同

时也具有提高其抗病毒活性的潜力。并且这一活性可在外源表达系统中被保留,极大地扩宽了凝集素在生物医学中的应用范围;通过基因编辑技术还有望提高凝集素体外纯化后的稳定性,对抗动物病毒的研究具有十分重要的意义。

5.2 通过纳米技术拓宽凝集素应用范围

凝集素不仅具有一定的抗病毒功能,同时被发现具有广泛的抗真菌活性、抗虫活性和抗肿瘤活性^[139-141]。然而,其在抗虫应用与抗肿瘤治疗上还没有得到广泛应用,主要原因有:一、许多凝集素具有一定的生物毒性;二、凝集素不易受消化酶的影响,但很容易被热分解;三、凝集素对碳水化合物强力的结合活性可能会导致其优先作用在其他位点,无法与靶位点结合。纳米技术是近年来一项热门的交叉性综合学科,其在生物学和药物学具有重大突破。将纳米技术运用到凝集素抗病毒、抗虫及抗肿瘤治疗策略中,有望做到精准的靶向治疗,同时也可使纯化后的凝集素更易保存和使用,是拓宽凝集素广泛应用的关键策略之一。

参考文献:

- [1] van Damme E J M, Peumans W J, Barre A, et al. Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 1998, 17(6): 575-692.
- [2] 孙 册, 朱 政, 莫汉庆. 凝集素[M]. 北京: 科学出版社, 1986: 116-121.
- [3] 蔡茜茜, 李巧玲, 刘舒云, 等. 植物凝集素研究与展望[J]. 食品科学技术学报, 2013, 31(6): 51-57.
- [4] van Damme E J M. History of plant lectin research[J]. Methods in Molecular Biology, 2014, 1200: 3-13.
- [5] Jiang S Y, Ma Z G, Ramachandran S. Evolutionary history and stress regulation of the lectin superfamily in higher plants[J]. BMC Evolutionary Biology, 2010, 10(1): 79.
- [6] van Damme E J M, Lannoo N, Peumans W J. Plant lectins[J]. Advances in Botanical Research, 2008, 48: 107-209.
- [7] Sonnenberg A S M, Sedaghat - Telgerd N, Lavrijssen B, et al. Author Correction: Telomere - to - telomere assembled and centromere annotated genomes of the two main subspecies of the button mushroom *Agaricus bisporus* reveal especially polymorphic chromosome ends[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 16734.
- [8] Taparia T, Krijger M, Haynes E, et al. Molecular characterization of *Pseudomonas* from *Agaricus bisporus* caps reveal novel blotch pathogens in Western Europe [J]. BMC Genomics, 2020, 21(1): 505.
- [9] Raina R, Bageshwar U K, Das H K. The *Azotobacter vinelandii* *nifL* - like gene; nucleotide sequence analysis and regulation of expression [J]. Molecular and General Genetics MGG, 1993, 237(3): 400-406.
- [10] Guo H N, Jia Y T, Zhou Y G, et al. Effects of transgenic tobacco plants expressing *ACA* gene from *Amaranthus caudatus* on the population development of *Myzus persicae* [J]. Acta Botanica Sinica, 2004, 46(9): 1100-1105.
- [11] Xiao Y H, Hou L, Yuan X D, et al. Cloning and characterization of a homologous gene of plant class V chitinase from balsampear, *Momordica charantia* Linn[J]. Yi Chuan Xue Bao, 2002, 29(11): 1028-1033.
- [12] Khoshdel Nezamiha F, Imani S, Arabi Mianroodi R, et al. OdTx12/GNA, a chimeric variant of a β excitatory toxin from *Odontobuthus doriae*, reveals oral toxicity towards *Locusta migratoria* and *Tenebrio molitor* [J]. Toxicon, 2021, 202: 13-19.
- [13] van Damme E J M, Hao Q, Charels D, et al. Characterization and molecular cloning of two different type - 2 ribosome - inactivating proteins from the monocotyledonous plant *Polygonatum multiflorum* [J]. European Journal of Biochemistry, 2000, 267(9): 2746-2759.
- [14] Mitchell C A, Ramessar K, O'Keefe B R. Antiviral lectins; selective inhibitors of viral entry [J]. Antiviral Research, 2017, 142: 37-54.
- [15] Bertaux C, Daelemans D, Meertens L, et al. Entry of hepatitis C virus and human immunodeficiency virus is selectively inhibited by carbohydrate - binding agents but not by polyanions[J]. Virology, 2007, 366(1): 40-50.
- [16] Akkouch O, Ng T, Singh S, et al. Lectins with anti - HIV activity: a review[J]. Molecules, 2015, 20(1): 648-668.
- [17] Keyaerts E, Vijgen L, Pannecouque C, et al. Plant lectins are potent inhibitors of coronaviruses by interfering with two targets in the viral replication cycle[J]. Antiviral Research, 2007, 75(3): 179-187.
- [18] Balzarini J, Hatse S, Vermeire K, et al. Mannose - specific plant lectins from the Amaryllidaceae family qualify as efficient microbicides for prevention of human immunodeficiency virus infection[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2004, 48(10): 3858-3870.
- [19] Barre A, Bourne Y, van Damme E J M, et al. Mannose - binding plant lectins; different structural scaffolds for a common sugar - recognition process[J]. Biochimie, 2001, 83(7): 645-651.
- [20] van Damme E J, Allen A K, Peumans W J. Leaves of the orchid twayblade (*Listera ovata*) contain a mannose - specific lectin[J]. Plant Physiology, 1987, 85(2): 566-569.
- [21] Mazalovska M, Kouokam J C. Lectins as promising therapeutics for the prevention and treatment of HIV and other potential coinfections [J]. BioMed Research International, 2018, 2018: 1-12.
- [22] Koharudin L M I, Liu L, Gronenborn A M. Different 3D domain - swapped oligomeric cyanovirin - N structures suggest trapped folding intermediates[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(19): 7702-7707.
- [23] Keeffe J R, Gnanapragasam P N P, Gillespie S K, et al. Designed oligomers of cyanovirin - N show enhanced HIV neutralization[J].

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108 (34) : 14079 – 14084.
- [24] Tran L H, Urbanowicz A, Jasiński M, et al. 3D domain swapping dimerization of the receiver domain of cytokinin receptor CRE1 from *Arabidopsis thaliana* and *Medicago truncatula* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12 : 756341.
- [25] Galicia C, Mendoza – Hernández G, Rodríguez – Romero A. Impact of the vulcanization process on the structural characteristics and IgE recognition of two allergens, Hev b 2 and Hev b 6.02, extracted from latex surgical gloves [J]. *Molecular Immunology*, 2015, 65 (2) : 250 – 258.
- [26] Kini S G, Wong K H, Tan W L, et al. Morintides; cargo – free chitin – binding peptides from *Moringa oleifera* [J]. *BMC Plant Biology*, 2017, 17 (1) : 68.
- [27] van Damme E J M, Barre A, Rougé P, et al. Potato lectin: an updated model of a unique chimeric plant protein [J]. *The Plant Journal*, 2004, 37 (1) : 34 – 45.
- [28] Rey T, Nars A, Bonhomme M, et al. NFP, a LysM protein controlling Nod factor perception, also intervenes in *Medicago truncatula* resistance to pathogens [J]. *New Phytologist*, 2013, 198 (3) : 875 – 886.
- [29] Aryal U K, McBride Z, Chen D L, et al. Analysis of protein complexes in *Arabidopsis* leaves using size exclusion chromatography and label – free protein correlation profiling [J]. *Journal of Proteomics*, 2017, 166 : 8 – 18.
- [30] Li X P, Harijan R K, Cao B, et al. Synthesis and structural characterization of ricin inhibitors targeting ribosome binding using fragment – based methods and structure – based design [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 64 (20) : 15334 – 15348.
- [31] Kumaki Y, Wandersee M K, Smith A J, et al. Inhibition of severe acute respiratory syndrome coronavirus replication in a lethal SARS – CoV BALB/c mouse model by stinging nettle lectin, *Urtica dioica* agglutinin [J]. *Antiviral Research*, 2011, 90 (1) : 22 – 32.
- [32] Singh R S, Walia A K. Lectins from red algae and their biomedical potential [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2018, 30 (3) : 1833 – 1858.
- [33] Hoorelbeke B, Huskens D, Féris G, et al. Actinohivin, a broadly neutralizing prokaryotic lectin, inhibits HIV – 1 infection by specifically targeting high – mannose – type glycans on the gp120 envelope [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010, 54 (8) : 3287 – 3301.
- [34] Sakai H, Naito K, Ogiso – Tanaka E, et al. The power of single molecule real – time sequencing technology in the *de novo* assembly of a eukaryotic genome [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5 : 16780.
- [35] Yoshihiro K, de la Bastide M, Hamilton J P, et al. Improvement of the *Oryza sativa* Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data [J]. *Rice*, 2013, 6 (1) : 1 – 10.
- [36] Nabeta H W, Kouokam J C, Lasnik A B, et al. Novel antifungal activity of Q – griffithsin, a broad – spectrum antiviral lectin [J]. *Microbiology Spectrum*, 2021, 9 (2) : e0095721.
- [37] Jayaprakash N G, Singh A, Vivek R, et al. The barley lectin, horcolin, binds high – mannose glycans in a multivalent fashion, enabling high – affinity, specific inhibition of cellular HIV infection [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2020, 295 (34) : 12111 – 12129.
- [38] Jayaprakash N G, Singh A, Vivek R, et al. Correction: the barley lectin, horcolin, binds high – mannose glycans in a multivalent fashion, enabling high – affinity, specific inhibition of cellular HIV infection [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2021, 297 (3) : 101158.
- [39] Chang W C, Liu K L, Hsu F C, et al. Ipomoelin, a jacalin – related lectin with a compact tetrameric association and versatile carbohydrate binding properties regulated by its N terminus [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (7) : e40618.
- [40] Wetprasit N, Threesangsri W, Klamklai N, et al. Jackfruit lectin: properties of mitogenicity and the inhibition of herpesvirus infection [J]. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 2000, 53 (4) : 156 – 161.
- [41] Nagae M, Mishra S K, Hanashima S, et al. Distinct roles for each N – glycan branch interacting with mannose – binding type Jacalin – related lectins Oryzata and Calsepa [J]. *Glycobiology*, 2017, 27 (12) : 1120 – 1133.
- [42] Li L, Tian X N, Chen J, et al. Griffithsin inhibits porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection *in vitro* [J]. *Archives of Virology*, 2018, 163 (12) : 3317 – 3325.
- [43] Meuleman P, Albecka A, Belouzard S, et al. Griffithsin has antiviral activity against hepatitis C virus [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011, 55 (11) : 5159 – 5167.
- [44] Takebe Y, Saucedo C J, Lund G, et al. Antiviral lectins from red and blue – green algae show potent *in vitro* and *in vivo* activity against hepatitis C virus [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (5) : e64449.
- [45] Millet J K, Séron K, Labitt R N, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus infection is inhibited by griffithsin [J]. *Antiviral Research*, 2016, 133 : 1 – 8.
- [46] Ishag H Z A, Li C, Huang L, et al. Griffithsin inhibits Japanese encephalitis virus infection *in vitro* and *in vivo* [J]. *Archives of Virology*, 2013, 158 (2) : 349 – 358.
- [47] Levendosky K, Mizenina O, Martinelli E, et al. Griffithsin and carrageenan combination to target *Herpes simplex* virus 2 and human papillomavirus [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2015, 59 (12) : 7290 – 7298.
- [48] Derby N, Lal M, Aravantinou M, et al. Griffithsin carrageenan fast dissolving inserts prevent SHIV HSV – 2 and HPV infections *in vivo* [J]. *Nature Communications*, 2018, 9 : 3881.
- [49] Lusvarghi S, Bewley C A. Griffithsin: an antiviral lectin with outstanding therapeutic potential [J]. *Viruses*, 2016, 8 (10) : 296.
- [50] Lee C. Griffithsin, a highly potent broad – spectrum antiviral lectin from red algae: from discovery to clinical application [J]. *Marine Drugs*, 2019, 17 (10) : 567.
- [51] Mishra A, Behura A, Mawatwal S, et al. Structure – function and application of plant lectins in disease biology and immunity [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2019, 134 : 110827.

- [52] Swanson M D, Boudreaux D M, Salmon L, et al. Engineering a therapeutic lectin by uncoupling mitogenicity from antiviral activity [J]. *Cell*, 2015, 163(3): 746–758.
- [53] Covés – Datson E M, King S R, Legendre M, et al. A molecularly engineered antiviral banana lectin inhibits fusion and is efficacious against influenza virus infection *in vivo* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(4): 2122–2132.
- [54] Barton C, Kouokam J C, Lasnik A B, et al. Activity of and effect of subcutaneous treatment with the broad – spectrum antiviral lectin griffithsin in two laboratory rodent models [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2014, 58(1): 120–127.
- [55] Müller W E, Renneisen K, Kreuter M H, et al. The D – mannose – specific lectin from *Gerardia savaglia* blocks binding of human immunodeficiency virus type I to H9 cells and human lymphocytes *in vitro* [J]. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 1988, 1(5): 453–458.
- [56] Jensen S M R, Ruscetti F W, Rein A, et al. Differential inhibitory effects of cyanovirin – N, griffithsin, and scytovirin on entry mediated by envelopes of gammaretroviruses and deltaretroviruses [J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(4): 2327–2332.
- [57] Tiwari V, Shukla S Y, Shukla D. A sugar binding protein cyanovirin – N blocks *Herpes simplex* virus type – 1 entry and cell fusion [J]. *Antiviral Research*, 2009, 84(1): 67–75.
- [58] Boyd M R, Gustafson K R, McMahon J B, et al. Discovery of cyanovirin – N, a novel human immunodeficiency virus – inactivating protein that binds viral surface envelope glycoprotein gp120: potential applications to microbicide development [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1997, 41(7): 1521–1530.
- [59] Kachko A, Loesgen S, Shahzad – ul – Hussan S, et al. Inhibition of hepatitis C virus by the cyanobacterial protein *Microcystis viridis* lectin; mechanistic differences between the high – mannose specific lectins MVL, CV – N, and GNA [J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2013, 10(12): 4590–4602.
- [60] Sato Y, Morimoto K, Kubo T, et al. Entry inhibition of influenza viruses with high mannose binding lectin ESA – 2 from the red alga *Eucheuma serra* through the recognition of viral hemagglutinin [J]. *Marine Drugs*, 2015, 13(6): 3454–3465.
- [61] Sato Y, Morimoto K, Hirayama M, et al. High mannose – specific lectin (KAA – 2) from the red alga *Kappaphycus alvarezii* potently inhibits influenza virus infection in a strain – independent manner [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, 405(2): 291–296.
- [62] Liu Y M, Shahed – Al – Mahmud M, Chen X R, et al. A carbohydrate – binding protein from the edible *Lablab* beans effectively blocks the infections of influenza viruses and SARS – CoV – 2 [J]. *Cell Reports*, 2020, 32(6): 108016.
- [63] Saidi H, Nasreddine N, Jenabian M A, et al. Differential *in vitro* inhibitory activity against HIV – 1 of alpha – (1 – 3) – and alpha – (1 – 6) – D – mannose specific plant lectins; implication for microbicide development [J]. *Journal of Translational Medicine*, 2007, 5(1): 28.
- [64] Gnanesh K B S, Pohlentz G, Schulte M, et al. N – glycan analysis of mannose/glucose specific lectin from *Dolichos lablab* seeds [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 69: 400–407.
- [65] Sato Y, Hirayama M, Morimoto K, et al. High mannose – binding lectin with preference for the cluster of alpha1 – 2 – mannose from the green alga *Boodlea coacta* is a potent entry inhibitor of HIV – 1 and influenza viruses [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(22): 19446–19458.
- [66] Ooi L S M, Ho W S, Ngai K L K, et al. *Narcissus tazetta* lectin shows strong inhibitory effects against respiratory syncytial virus, influenza A (H1N1, H3N2, H5N1) and B viruses [J]. *Journal of Biosciences*, 2010, 35(1): 95–103.
- [67] Luo Y T, Xu X C, Liu J W, et al. 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 [J]. *BMB Reports*, 2007, 40(3): 358–367.
- [68] Yang Y, Xu H L, Zhang Z T, et al. Characterization, molecular cloning, and *in silico* analysis of a novel mannose – binding lectin from *Polygonatum odoratum* (Mill.) with anti – HSV – II and apoptosis – inducing activities [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(8/9): 748–755.
- [69] Huskens D, Féir G, Vermeire K, et al. Microvirin, a novel alpha (1, 2) – mannose – specific lectin isolated from *Microcystis aeruginosa*, has anti – HIV – 1 activity comparable with that of cyanovirin – N but a much higher safety profile [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(32): 24845–24854.
- [70] Peng H, Lyu H, Wang Y, et al. *Clematis montana* lectin, a novel mannose – binding lectin from traditional Chinese medicine with antiviral and apoptosis – inducing activities [J]. *Peptides*, 2009, 30(10): 1805–1815.
- [71] Bouwman L H, Eerligh P, Terpstra O T, et al. Elevated levels of mannose – binding lectin at clinical manifestation of type 1 diabetes in juveniles [J]. *Diabetes*, 2005, 54(10): 3002–3006.
- [72] Victoria A, Amaya B, Shenoy Shilpa R, et al. Physicochemical characterization of the recombinant lectin scytovirin and microbicidal activity of the SD1 domain produced in rice against HIV – 1 [J]. *Plant Cell Reports*, 2022, 41(4): 1013–1023.
- [73] Mori T, O'Keefe B R, Sowder R C, et al. Isolation and characterization of griffithsin, a novel HIV – inactivating protein, from the red alga *Griffithsia* sp. [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(10): 9345–9353.
- [74] Ziolkowska N E, O'Keefe B R, Mori T, et al. Domain – swapped structure of the potent antiviral protein griffithsin and its mode of carbohydrate binding [J]. *Structure*, 2006, 14(7): 1127–1135.
- [75] Ziolkowska N E, Shenoy S R, O'Keefe B R, et al. Crystallographic, thermodynamic, and molecular modeling studies of the mode of binding of oligosaccharides to the potent antiviral protein griffithsin [J]. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2007, 67

- (3):661–670.
- [76] Emau P, Tian B, O'keefe B R, et al. Griffithsin, a potent HIV entry inhibitor, is an excellent candidate for anti-HIV microbicide[J]. *Journal of Medical Primatology*, 2007, 36(4/5):244–253.
- [77] Balzarini J. Targeting the glycans of gp120: a novel approach aimed at the Achilles heel of HIV[J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2005, 5(11):726–731.
- [78] Alexandre K B, Gray E S, Lambson B E, et al. Mannose-rich glycosylation patterns on HIV-1 subtype C gp120 and sensitivity to the lectins, Griffithsin, Cyanovirin-N and Scytovirin[J]. *Virology*, 2010, 402(1):187–196.
- [79] Nixon B, Stefanidou M, Mesquita P M M, et al. Griffithsin protects mice from genital herpes by preventing cell-to-cell spread[J]. *Journal of Virology*, 2013, 87(11):6257–6269.
- [80] O'Keefe B R, Vojdani F, Buffa V, et al. Scaleable manufacture of HIV-1 entry inhibitor griffithsin and validation of its safety and efficacy as a topical microbicide component[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(15):6099–6104.
- [81] Bolmstedt A J, O'Keefe B R, Shenoy S R, et al. Cyanovirin-N defines a new class of antiviral agent targeting N-linked, high-mannose glycans in an oligosaccharide-specific manner[J]. *Molecular Pharmacology*, 2001, 59(5):949–954.
- [82] Mori T, Boyd M R. Cyanovirin-N, a potent human immunodeficiency virus-inactivating protein, blocks both CD4-dependent and CD4-independent binding of soluble gp120 (sgp120) to target cells, inhibits sCD4-induced binding of sgp120 to cell-associated CXCR4, and dissociates bound sgp120 from target cells[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2001, 45(3):664–672.
- [83] Barrientos L G, O'Keefe B R, Bray M, et al. Cyanovirin-N binds to the viral surface glycoprotein, GP_{1,2} and inhibits infectivity of Ebola virus[J]. *Antiviral Research*, 2003, 58(1):47–56.
- [84] O'Keefe B R, Smee D F, Turpin J A, et al. Potent anti-influenza activity of cyanovirin-N and interactions with viral hemagglutinin[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2003, 47(8):2518–2525.
- [85] Buffa V, Stieh D, Mamhood N, et al. Cyanovirin-N potently inhibits human immunodeficiency virus type 1 infection in cellular and cervical explant models[J]. *Journal of General Virology*, 2009, 90(1):234–243.
- [86] Dey B, Lerner D L, Lusso P, et al. Multiple antiviral activities of cyanovirin-N: blocking of human immunodeficiency virus type 1 gp120 interaction with CD4 and coreceptor and inhibition of diverse enveloped viruses[J]. *Journal of Virology*, 2000, 74(10):4562–4569.
- [87] Wilen C B, Tilton J C, Doms R W. HIV: cell binding and entry[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2012, 2(8):a006866.
- [88] Bewley C A, Otero-Quintero S. The potent anti-HIV protein cyanovirin-N contains two novel carbohydrate binding sites that selectively bind to Man8 D1D3 and Man9 with nanomolar affinity: implications for binding to the HIV envelope protein gp120[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2001, 123(17):3892–3902.
- [89] Tanaka H, Chiba H, Inokoshi J, et al. Mechanism by which the lectin actinohivin blocks HIV infection of target cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(37):15633–15638.
- [90] Kehr J C, Zilliges Y, Springer A, et al. A mannan binding lectin is involved in cell-cell attachment in a toxic strain of *Microcystis aeruginosa*[J]. *Molecular Microbiology*, 2006, 59(3):893–906.
- [91] Shahzad-ul-Hussan S, Gustchina E, Ghirlando R, et al. Solution structure of the monovalent lectin microvirin in complex with Man(α)(1–2)Man provides a basis for anti-HIV activity with low toxicity[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(23):20788–20796.
- [92] Fouquaert E, Smith D F, Peumans W J, et al. Related lectins from snowdrop and maize differ in their carbohydrate-binding specificity[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009, 380(2):260–265.
- [93] Shibuya N, Goldstein I J, Van Damme E J, et al. Binding properties of a mannose-specific lectin from the snowdrop (*Galanthus nivalis*) bulb[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1988, 263(2):728–734.
- [94] van Damme E J M, Allen A K, Peumans W J. Isolation and characterization of a lectin with exclusive specificity towards mannose from snowdrop (*Galanthus nivalis*) bulbs[J]. *FEBS Letters*, 1987, 215(1):140–144.
- [95] Balzarini J. Inhibition of HIV entry by carbohydrate-binding proteins[J]. *Antiviral Research*, 2006, 71(2/3):237–247.
- [96] Balzarini J, Neyts J, Schols D, et al. The mannose-specific plant lectins from *Cymbidium* hybrid and *Epipactis helleborine* and the (N-acetylglucosamine)_n-specific plant lectin from *Urtica dioica* are potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus and cytomegalovirus replication *in vitro*[J]. *Antiviral Research*, 1992, 18(2):191–207.
- [97] Smeets K, van Damme E J M, Van Leuven F, et al. Isolation, characterization and molecular cloning of a leaf-specific lectin from ramsons (*Allium ursinum* L.). [J]. *Plant Molecular Biology*, 1997, 35(4):531–535.
- [98] van Damme E J M, Barre A, Rougé P, et al. Molecular cloning of the lectin and a lectin-related protein from common Solomon's seal (*Polygonatum multiflorum*)[J]. *Plant Molecular Biology*, 1996, 31(3):657–672.
- [99] Wright L M, Van Damme E J M, Barre A, et al. Isolation, characterization, molecular cloning and molecular modelling of two lectins of different specificities from bluebell (*Scilla campanulata*) bulbs[J]. *Biochemical Journal*, 1999, 340(1):299–308.
- [100] Liu J W, Xu X C, Liu J Z, et al. A novel tetrameric lectin from *Lycoris aurea* with four mannose binding sites per monomer[J]. *Acta Biochimica Polonica*, 2007, 54(1):159–166.

- [101] Sacchettini J C, Baum L G, Brewer C F. Multivalent protein – carbohydrate interactions. A new paradigm for supermolecular assembly and signal transduction [J]. Biochemistry, 2001, 40 (10): 3009 – 3015.
- [102] Yee M. Inhibition of HIV – 1 env – mediated cell – cell fusion by lectins, peptide T – 20, and neutralizing antibodies [J]. The Open Virology Journal, 2011, 5 (1): 44 – 51.
- [103] Balzarini J. Carbohydrate – binding agents: a potential future cornerstone for the chemotherapy of enveloped viruses? [J]. Antiviral Chemistry and Chemotherapy, 2007, 18 (1): 1 – 11.
- [104] Peumans W J, Zhang W L, Barre A, et al. Fruit – specific lectins from banana and plantain [J]. Planta, 2000, 211 (4): 546 – 554.
- [105] Meagher J L, Winter H C, Ezell P, et al. Crystal structure of banana lectin reveals a novel second sugar binding site [J]. Glycobiology, 2005, 15 (10): 1033 – 1042.
- [106] Inokoshi J, Chiba H, Asanuma S, et al. Molecular cloning of actinohivin, a novel anti – HIV protein from an actinomycete, and its expression in *Escherichia coli* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2001, 281 (5): 1261 – 1265.
- [107] Chiba H, Inokoshi J, Okamoto M, et al. Actinohivin, a novel anti – HIV protein from an actinomycete that inhibits syncytium formation; isolation, characterization, and biological activities [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2001, 282 (2): 595 – 601.
- [108] Takahashi A, Inokoshi J, Chiba H, et al. Essential regions for antiviral activities of actinohivin, a sugar – binding anti – human immunodeficiency virus protein from an actinomycete [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2005, 437 (2): 233 – 240.
- [109] Marchetti M, Mastromarino P, Rieti S, et al. Inhibition of *Herpes simplex*, rabies and rubella viruses by lectins with different specificities [J]. Research in Virology, 1995, 146 (3): 211 – 215.
- [110] Balzarini J, Van Laethem K, Hatse S, et al. Profile of resistance of human immunodeficiency virus to mannose – specific plant lectins [J]. Journal of Virology, 2004, 78 (19): 10617 – 10627.
- [111] Xu H L, Li C Y, He X M, et al. Molecular modeling, docking and dynamics simulations of GNA – related lectins for potential prevention of influenza virus (H1N1) [J]. Journal of Molecular Modeling, 2012, 18 (1): 27 – 37.
- [112] Zhang G, Sun J, Wang H, et al. First isolation and characterization of a novel lectin with potent antitumor activity from a *Russula mushroom* [J]. Phytomedicine, 2010, 17 (10): 775 – 781.
- [113] Wong J H, Ng T B. Purification of a trypsin – stable lectin with antiproliferative and HIV – 1 reverse transcriptase inhibitory activity [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2003, 301 (2): 545 – 550.
- [114] 鲍大鹏, 马元伟, 王 荣, 等. 蛹虫草凝集素编码基因 *JRL – ccm4* 的初步研究 [J]. 上海农业学报, 2016, 32 (6): 1 – 4.
- [115] Li Y R, Zhang G Q, Ng T, et al. A novel lectin with antiproliferative and HIV – 1 reverse transcriptase inhibitory activities from dried fruiting bodies of the monkey head mushroom *Hericium erinaceum* [J]. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2010, 2010 (6): 716515.
- [116] 付鸣佳, 吴祖建, 林奇英, 等. 榆黄蘑中一种抗病毒蛋白的纯化及其抗 TMV 和 HBV 的活性 [J]. 中国病毒学, 2002 (4): 350 – 353.
- [117] Davis G L, Alter M J, El – Serag H, et al. Aging of hepatitis C virus (HCV) – infected persons in the United States: a multiple cohort model of HCV prevalence and disease progression [J]. Gastroenterology, 2010, 138 (2): 513 – 521.
- [118] Goffard A, Callens N, Bartosch B, et al. Role of N – linked glycans in the functions of hepatitis C virus envelope glycoproteins [J]. Journal of Virology, 2005, 79 (13): 8400 – 8409.
- [119] Falkowska E, Kajumo F, Garcia E, et al. Hepatitis C virus envelope glycoprotein E2 glycans modulate entry, CD81 binding, and neutralization [J]. Journal of Virology, 2007, 81 (15): 8072 – 8079.
- [120] Ashfaq U A, Masoud M S, Khaliq S, et al. Inhibition of hepatitis C virus 3a genotype entry through glanthus nivalis agglutinin [J]. Virology Journal, 2011, 8 (1): 1 – 7.
- [121] Uematsu J, Koyama A, Takano S, et al. Legume lectins inhibit human parainfluenza virus type 2 infection by interfering with the entry [J]. Viruses, 2012, 4 (7): 1104 – 1115.
- [122] O'Keefe B R, Giomarelli B, Barnard D L, et al. Broad – spectrum *in vitro* activity and *in vivo* efficacy of the antiviral protein griffithsin against emerging viruses of the family Coronaviridae [J]. Journal of Virology, 2010, 84 (5): 2511 – 2521.
- [123] Vankadari N, Wilce J A. Emerging COVID – 19 coronavirus: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26 [J]. Emerging Microbes & Infections, 2020, 9 (1): 601 – 604.
- [124] de Clercq E. Potential antivirals and antiviral strategies against SARS coronavirus infections [J]. Expert Review of Anti – Infective Therapy, 2006, 4 (2): 291 – 302.
- [125] Xu X C, Zhang Z W, Chen Y E, et al. Antiviral and antitumor activities of the lectin extracted from *Aspidistra elatior* [J]. Zeitschrift Für Naturforschung C, 2015, 70 (1/2): 7 – 13.
- [126] 吴恩奇, 图力古尔. 蘑菇凝集素及其研究进展 [J]. 菌物研究, 2006, 4 (4): 69 – 76.
- [127] 鲍锦库. 植物凝集素的功能 [J]. 生命科学, 2011, 23 (6): 533 – 540.
- [128] Peumans W J, van Damme E J. Lectins as plant defense proteins [J]. Plant Physiology, 1995, 109 (2): 347 – 352.
- [129] 刘庆洪. 茶树菇、鹿角炭角菌和砖红绒盖牛肝菌凝集素纯化及其免疫调节活性的研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2004: 7 – 8.
- [130] Giomarelli B, Schumacher K M, Taylor T E, et al. Recombinant production of anti – HIV protein, griffithsin, by auto – induction in a fermentor culture [J]. Protein Expression and Purification, 2006, 47 (1): 194 – 202.
- [131] Fuqua J L, Wanga V, Palmer K E. Improving the large scale purification of the HIV microbicide, griffithsin [J]. BMC Biotechnology, 2015, 15 (1): 12.

白 甜,黄大跃,刘 璐,等. 甜瓜霜霉病研究进展[J]. 江苏农业科学,2023,51(18):12-19.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.18.002

甜瓜霜霉病研究进展

白 甜,黄大跃,刘 璐,张雪莲,程 瑞,孙玉东
(江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所,江苏淮安 223001)

摘要:甜瓜霜霉病是威胁我国乃至世界甜瓜产业发展的主要病害之一。近几年,我国甜瓜的栽培面积呈不断扩大趋势,甜瓜霜霉病的发生也逐年增多。该病害传播速度快且防治难度大,对我国甜瓜的产量和品质造成了严重影响,同时也引起巨大的经济损失,严重制约了甜瓜产业的可持续发展,因此对于甜瓜霜霉病的深入研究尤为重要。为了防控该病害,从 19 世纪 60 年代起,各国的科研工作者就陆续展开了关于甜瓜霜霉病的相关研究。本文以前人的研究为基础,围绕甜瓜霜霉病进行了系统全面的综述,主要包括甜瓜霜霉病的危害与症状识别、引起该病害的病原菌及其生理小种分化情况、侵染循环与发生规律、抗性相关研究、防治方法等五大方面。其中,对甜瓜霜霉病的抗性研究展开了详细阐述,具体分为抗性鉴定、抗性材料、抗性遗传分析、抗性资源分子标记及基因/QTL 定位共 4 个方面。另外,本文也对甜瓜霜霉病研究中存在的问题及解决办法进行了分析与讨论,以期为该病害的深入研究及科学防控提供参考。

关键词:甜瓜;霜霉病;病原菌;抗性研究;科学防控

中图分类号:S436.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)18-0012-08

甜瓜(*Cucumis melo* L.)是人们生活中比较普遍的水果之一,在世界范围内广泛种植。目前,我国经济快速发展,农业产业结构随之做出了调整,我

国的甜瓜产业在整个国家的农业生产中占据的重要地位逐渐突出,如今我国的甜瓜栽培面积和产量都处于世界领先水平^[1-3]。而甜瓜霜霉病是中国甚至世界甜瓜产业发展中一种重要的真菌性病害,发生比较普遍并且造成了严重的经济损失^[4]。在高温且高湿的环境条件下,该病害更容易发生且迅速传播蔓延。目前,主要使用化学药剂进行甜瓜霜霉病的防治,但是长时间使用化学农药会造成病原菌株产生耐药性,使药剂防治的效果大打折扣同时也增加了防治成本,使商品瓜的安全性下降,这些问

收稿日期:2022-11-09

基金项目:国家西甜瓜产业技术体系建设专项(编号:CARS-25);淮安市农业科学研究院科研发展基金(编号:HCN202104)。

作者简介:白 甜(1996—),女,山西吕梁人,硕士研究生,研究实习员,主要研究方向为西甜瓜种质创新与抗病育种。E-mail:739928160@qq.com。

通信作者:孙玉东,研究员,主要研究方向为西甜瓜育种及栽培技术。E-mail:sunyudong@jaas.ac.cn。

[132] Fuqua J L, Hamorsky K, Khalsa G, et al. Bulk production of the antiviral lectin griffithsin [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2015, 13(8):1160-1168.

[133] Vafaee Y, Alizadeh H. Heterologous production of recombinant anti-HIV microbicide griffithsin in transgenic lettuce and tobacco lines [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2018, 135(1):85-97.

[134] Hoelscher M, Tiller N, - H Teh A Y, et al. High-level expression of the HIV entry inhibitor griffithsin from the plastid genome and retention of biological activity in dried tobacco leaves [J]. *Plant Molecular Biology*, 2018, 97(4):357-370.

[135] Vamvaka E, Arcalis E, Ramessar K, et al. Rice endosperm is cost-effective for the production of recombinant griffithsin with potent activity against HIV [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2016, 14(6):1427-1437.

[136] Sexton A, Drake P M, Mahmood N, et al. Transgenic plant

production of Cyanovirin - N, an HIV microbicide [J]. *The FASEB Journal*, 2006, 20(2):356-358.

[137] Saha P, Majumder P, Dutta I, et al. Transgenic rice expressing *Allium sativum* leaf lectin with enhanced resistance against sap-sucking insect pests [J]. *Planta*, 2006, 223(6):1329-1343.

[138] Sharon N, Lis H. Legume lectins - a large family of homologous proteins [J]. *The FASEB Journal*, 1990, 4(14):3198-3208.

[139] Lagarda - Diaz I, Guzman - Partida A, Vazquez - Moreno L. Legume lectins: proteins with diverse applications [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(6):1242.

[140] Sinha N, Panda P K, Naik P P, et al. *Abrus* agglutinin promotes irreparable DNA damage by triggering ROS generation followed by ATM - p73 mediated apoptosis in oral squamous cell carcinoma [J]. *Molecular Carcinogenesis*, 2017, 56(11):2400-2413.

[141] 徐重新, 谢雅晶, 何 鑫, 等. 凝集素在农业和食品领域中的应用研究进展[J]. *江苏农业学报*, 2022, 38(4):1135-1144.