

红花石蒜球茎凝集素的纯化及部分性质*

常丽青 吴传芳 吕鸿周 刘超 顾莹 陈放 吴洽庆^{1**} 鲍锦库^{**}

(四川大学生命科学学院 成都 610064)

(¹中国科学院成都生物研究所 成都 610041)

摘要 石蒜科植物红花石蒜(*Lycoris radiata*)球茎经生理盐水浸取、硫酸铵分级沉淀、DEAE-Sephacryl S-100 分子筛层析得到石蒜凝集素(*L. radiata* agglutinin, LRA). 经 SDS-PAGE 检测为单一蛋白带, 亚基相对分子量 M_r 为 12×10^3 , Sephacryl S-100 凝胶过滤测定 M_r 约为 45×10^3 , 表明 LRA 是由 4 个相同亚基组成的蛋白. LRA 能凝集兔红细胞和大肠杆菌, 最低凝集浓度分别为 $0.95 \mu\text{g/mL}$ 和 $1.9 \mu\text{g/mL}$; LRA 还能凝集啤酒酵母细胞. 糖抑制实验显示, 甘露聚糖和甲状腺球蛋白能有效抑制 LRA 的凝血活性. 促淋巴细胞有丝分裂试验结果表明, LRA 对外周血淋巴细胞具有很强的促有丝分裂能力; 同时, LRA 能有效地降低 II 型人类单纯疱疹病毒(HSV-II)对 Vero 细胞(非洲绿猴肾细胞)的感染, $\rho(\text{IC}_{50}) = 5 \sim 10 \mu\text{g/mL}$ 之间, 并且在 $500 \mu\text{g/mL}$ 时对正常 Vero 细胞无细胞毒性. 图 1 表 6 参 15

关键词 石蒜凝集素(LRA); 纯化; 凝集活性; 促淋巴细胞有丝分裂活性; 抗病毒活性

CLC Q946.1

PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF AGGLUTININ FROM BULBS OF *LYCORIS RADIATA* (AMARYLLIDACEAE)*

CHANG Liqing, WU Chuanfang, LÜ Hongzhou, LIU Chao, GU Ying, CHEN Fang, WU Qiaqing^{1**} & BAO Jinku^{**}

(College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

(¹ Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

Abstract *Lycoris radiata* agglutinin (LRA) was isolated from the bulbs of *L. radiata* by extraction, precipitation with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ion-exchange chromatography on DEAE-Sephacryl S-100. The purified lectin showed a single protein band on SDS-PAGE with the subunit molecular weight of 12×10^3 . The molecular weight of LRA was 45×10^3 determined by gel filtration on Sephacryl S-100. LRA could agglutinate rabbit erythrocyte at $0.95 \mu\text{g/mL}$ and *E. coli* cells at $1.9 \mu\text{g/mL}$, and it could also agglutinate *Saccharomyces cerevisiae* cells. The result of carbohydrate inhibition assay showed that Mannan and Thyroglobulin could inhibit the agglutinating activity of LRA. LRA had strong mitogenic activity toward human T-lymphocyte. LRA showed antiviral activity to *Herpes simplex virus II* (HSV-II), and the IC_{50} was $5 \sim 10 \mu\text{g/mL}$. It showed no cytotoxicity toward vero cells even at $500 \mu\text{g/mL}$. Fig 1, Tab 6, Ref 15

Keywords *Lycoris radiata* agglutinin (LRA); purification; hemagglutinating activity; mitogenic activity; antiviral activity

CLC Q946.1

凝集素是一类具有糖结合专一性, 可凝集细胞的蛋白质或糖蛋白. 从上世纪 60 年代起, 人们对凝集素的性质和生理作用就进行了广泛的研究, 发现凝集素在自然界广泛存在, 从大型的动植物、真菌到微小的细菌、病毒、支原体、衣原体中, 都有凝集素的存在^[1]; 在其功能方面, 凝集素在生物体内发挥着重要的作用, 它们与细胞间的粘着、细菌的感染宿主、受体介导的胞饮、宿主巨噬细胞清除入侵细菌、胚胎发育和机体代谢的调节控制、精子与卵细胞的识别、分子或离子的传递、雌性受粉、共生固氮、植物防御病原体入侵等生理过程密切相关^[1~6]. 有些凝集素具有腺嘌呤和腺嘌呤类似物的结合位点, 这同凝集素可能与一些植物激素结合共同发挥生理作用有关^[7], 凝集素正逐渐被认为是生物体内的一类重要物质.

红花石蒜(*Lycoris radiata*)属于石蒜科植物, 别名老鸦蒜、蒜头草、蟑螂花; 多年生草本, 鳞茎呈椭圆形, 内含丰富的凝集素(*L. radiata* agglutinin, 简称 LRA), 生于阴湿山地或丛林下, 也有栽培, 产华东、中南及西南地区^[8]; 其凝集素属于单子叶甘露糖结合凝集素, 这类凝集素通常具有相似的结构和功能. 1987 年, 第一个单子叶甘露糖结合凝集素雪花莲凝集素(GNA)被发现, 其在抗虫、抗病毒方面显示了良好的活性, 具有广泛的应用前景. 红花石蒜与雪花莲同属于石蒜科, 石蒜凝集素是否具有抗虫、抗病毒活性值得深入研究. 本文对石蒜凝集素的纯化和性质进行了初步研究, 为探索它在农业和医药方面的应用打下基础.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

红花石蒜采自四川省宜宾市, 上午 12 月 ~ 1 月成熟的球

收稿日期: 2004-07-12 接受日期: 2004-08-30

* 国家自然科学基金资助项目(No. 30000032) Supported by the National Natural Science Foundation of China

** 通讯作者 Corresponding author

茎;新鲜兔血采自市场并用生理盐水溶液离心洗涤3次,用相同溶液配成2%的血球悬液备用;培养用人外周血细胞取自成都市华西附二院。

DEAE-Sephrose 和 Sephacryl S-100 为 Pharmacia 公司产品;SDS-PAGE 中标准分子量蛋白为上海东风生物技术有限公司产品;丙烯酰胺、D-半乳糖(Gal)、N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)、D-甘露糖(Man)、D-果糖(Fru)、D-葡萄糖(Glc)、2-N-乙酰氨基葡萄糖(GlcNAc)、甘露聚糖(Mannan)和甲状腺球蛋白(Thyroglobulin)均为 Sigma 公司产品;亚甲基双丙烯酰胺为 Fluka 公司产品;GNA 标准品由比利时列文天主教大学植物保护研究所 van Damme 教授赠送;啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*),克鲁丝假丝酵母(*Candida krusei*),白假丝酵母(*C. albicans*),粘红酵母(*Rhodotorula glutinis*)由本实验室保存。阳性对照(CK⁺)药物无环鸟苷(ACV)为丽珠集团湖北科益药业有限公司产品;RPMI-1640 为 GIBCO 公司产品;新生小牛血清为华西生化制品厂产品;其余试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 红花石蒜凝集素的分离纯化 石蒜球茎经捣碎、生理盐水4℃浸取、硫酸铵分级沉淀(30%~60%)后得到粗品。将粗品以0.05 mol/L pH 8.3 Tris-HCl 缓冲液透析除去硫酸铵后,上以相同的缓冲液平衡的 DEAE-Sephrose FF 离子交换柱,将样品以2 mL/min 的流速上柱,用缓冲液以5 mL/min 流速洗脱至 $D_{280\text{nm}} < 0.02$,用0~1 mol/L NaCl 连续梯度洗脱,以处理好的新鲜兔血细胞检测活性,收集活性部分透析除盐,浓缩保存。浓缩样品用灭菌生理盐水平衡的 Sephacryl S-100 进行凝胶过滤,控制流速在1.0~1.5 mL/min 之间,以免血细胞检测活性,收集活性部分,冷冻干燥。SDS-PAGE(分离胶浓度为12%,浓缩胶浓度为4%,银染)测定蛋白纯度和亚基分子量,经 Sephacryl S-100 测定相对分子量。

1.2.2 蛋白质浓度测定 用 Folin-酚试剂测定,以牛血清白蛋白作标准。

1.2.3 LRA 凝血活性的测定 称取 LRA 冻干品用生理盐水配成1 mg/mL,在96孔板上进行系列倍比稀释测凝集兔血活性。

1.2.4 LRA 对大肠杆菌和酵母细胞的凝集作用 LRA 参照凝集活性测定法倍比稀释后,每孔加入25 μL 不同的酵母细胞和大肠杆菌悬液($n_{\text{cell}} = 4 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$),振荡,25℃静置2 h,检查活性。

1.2.5 糖抑制实验 LRA 按凝集活性测定法倍比稀释后,于每孔中加入25 μL 80 mmol/L 的生理盐水配制的糖溶液,振荡10 min,每孔加入25 μL 2%的兔血球悬液,振荡,25℃静置2 h,检查活性。

1.2.6 LRA 耐热性测定 LRA 以生理盐水配制成1 mg/mL,在20℃、40℃、60℃、70℃、80℃和100℃处理20 min 后,立即放冰浴冷却至室温,以倍比稀释测定活性。

1.2.7 LRA 耐酸碱碱性测定 取冻干品分别以生理盐水,pH 2.0 的 KCl-HCl 缓冲液,pH 4.0 和 5.6 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液,pH 9.0 的 NaHCO₃-Na₂CO₃ 缓冲液和 pH 12 的 KCl-

NaOH 缓冲液,配制成1 mg/mL LRA 溶液,放置过夜,倍比稀释测活性。

1.2.8 LRA 促 T-淋巴细胞的有丝分裂活性 按 Itoh^[9] 的方法测定,用人外周血淋巴细胞培养。将 LRA 在血细胞培养液中的终浓度 $\rho/\text{mg mL}^{-1}$ 分别设为 0.004、0.008、0.012、0.016 和 0.02。

1.2.9 LRA 抗单纯疱疹病毒活性 采用 CPE^[10] 法,将 96 孔板细胞长成单层后倾去培养基,加入样品溶液,每个样品浓度3个复孔,每孔0.2 mL。细胞对照孔加入新鲜培养基,37℃,5% CO₂ 培养 72 h,在显微镜下每日观察记录细胞病变程度。

2 结果

2.1 LRA 的纯化

红花石蒜球茎经生理盐水浸取,硫酸铵分级沉淀后,30%~60% 硫酸铵能将绝大多数 LRA 沉淀。经 DEAE-Sephrose 阴离子交换后获得仅含一种杂蛋白的 LRA,通过 Sephacryl S-100 可以将两种蛋白完全分开,从而获得 LRA 的纯品。通过 SDS-PAGE 电泳显示, M_r 为 12×10^3 的单一蛋白带,经 Sephacryl S-100 测定其 M_r 约为 45×10^3 ,表明 LRA 是由4个相同亚基组成的四聚体蛋白。

2.2 对大肠杆菌和酵母细胞的凝集作用

实验发现,LRA 对兔血细胞和大肠杆菌细胞具有很强的凝集活性。倍比稀释结果(表1)表明,LRA 凝集兔血细胞和大肠杆菌的最低浓度分别为1.9 μg/mL 和 0.95 μg/mL。LRA 对啤酒酵母(*S. cerevisiae*)具有凝集作用,凝集啤酒酵母的效价为62.5 μg/mL。对克鲁丝假丝酵母、白假丝酵母和粘红酵母3种的凝集效果不明显。

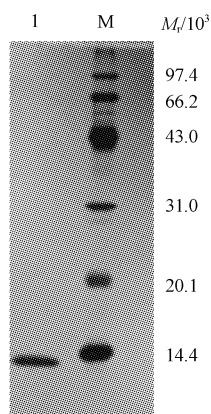


图1 SDS-聚丙烯酰胺电泳图谱

Fig. 1 SDS-PAGE of the purified LRA

1: LRA 经分子筛层析样品 Sample of S-100 gel filtration; M: Marker

2.3 糖抑制实验

LRA 的糖抑制实验结果见表2。甘露聚糖和猪甲状腺球蛋白对 LRA 的凝血活性有很强的抑制作用,甘露糖、N-乙酰葡萄糖胺和果糖也有一定的抑制作用,其它的糖类对 LRA 的抑制作用不明显。

表 1 LRA 对兔红细胞、大肠杆菌和酵母细胞的凝集
Table 1 Agglutination of rabbit red cell, *E. coli* and yeast by LRA

$\rho(\text{LRA})/\mu\text{g mL}^{-1}$	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.6	7.8	3.9	1.95	0.95	0.49
兔红细胞 Rabbit red cell	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
啤酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
克鲁假丝酵母 <i>Candida albicans</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
白假丝酵母 <i>C. albicans</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
粘红酵母 <i>Rhodotorula glutinis</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ : 凝集 Agglutination; - : 不凝集 Non agglutination. 下同 The same below

表 2 糖和甲状腺球蛋白对凝集素的抑制作用
Table 2 Inhibition of agglutination by sugar and thyroglobulin

$\rho(\text{LRA})/\mu\text{g mL}^{-1}$	500	250	125	62.5	31.3	15.6	7.80	3.90	1.95	0.95
CK	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-甘露糖 Man	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
甘露聚糖 Mannan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-半乳糖 Gal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
N-乙酰半乳糖胺 GalNAc	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
D-果糖 Fru	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
D-葡萄糖 Glc	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-N-乙酰氨基葡萄糖 GlcNAc	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
甲状腺球蛋白 Thyroglobulin	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.5 温度和 pH 对 LRA 凝集活性的影响

不同温度和 pH 条件下 LRA 对兔红细胞的凝集活性见表 3 和表 4。LRA 在 0.95 $\mu\text{g/mL}$ 时仍能凝集兔血细胞,在 40 $^{\circ}\text{C}$, 60 $^{\circ}\text{C}$, 70 $^{\circ}\text{C}$ 活性保持不变,80 $^{\circ}\text{C}$ 处理后活性仍保持 80%,在 100 $^{\circ}\text{C}$ 处理后,尚保留有 60% 的活性,说明 LRA 是一种对热比

较稳定的凝集素。

在 pH 2~4 范围内,随 pH 减小,其凝集活性降低,在 pH 2 时仍有部分活性(50%);在 pH 5.6~9 范围内,活性无变化;在 pH 12 时,仍保留 70% 的凝集活性(表 4),说明 LRA 是一个对酸、碱比较稳定的蛋白。

表 3 温度对 LRA 凝集活性的影响
Table 3 Effect of temperature on the hemagglutinating activity of LRA

$\theta/^{\circ}\text{C}$	$\rho(\text{LRA})/\mu\text{g mL}^{-1}$											
	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.6	7.8	3.9	1.95	0.95	0.49
40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
60	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
70	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
80	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
100	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

表 4 pH 对 LRA 凝血活性的影响
Table 4 Effect of pH on the hemagglutinating activity of LRA

pH	$\rho(\text{LRA})/\mu\text{g mL}^{-1}$											
	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.6	7.8	3.9	1.95	0.95	
2.0	H	H	H	+	+	+	-	-	-	-	-	
4.0	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
5.6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
9.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
12.0	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	

H: 溶血 Hemolysis

2.6 LRA 的促淋巴细胞有丝分裂活性

LRA 对外周血细胞的转化率随着 LRA 的浓度的升高而增加,当 LRA 的浓度为 0.02 mg/mL 时,转化率可以高达 99.55%,细胞有丝分裂率达 2.47%,而且实验观察发现细胞的形状极好,因此,LRA 是一种较强的促有丝分裂原(表 5)。

2.7 抗病毒实验结果

经过 72 h, LRA 在 500 $\mu\text{g/mL}$ ~5 $\times 10^{-7}$ $\mu\text{g/mL}$ 稀释度下均未出现细胞病变,表明 LRA 在这些浓度下无细胞毒性。细胞

接种病毒并加入含 LRA 培养基后,每日观察、记录细胞病变状况。72 h 后,细胞空白对照组未出现病变,阴性对照组出现显著的细胞病变,阳性对照药物组未出现细胞病变,结果见表 6。

由表 6 结果可以看出,当 LRA 浓度大于 40 $\mu\text{g/mL}$ 时完全抑制细胞病变,可以完全抑制 HSV-II。随 LRA 浓度的降低,细胞开始发生病变,LRA 浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$ 以上时约有 50% 左右细胞发生了病变,有部分抗 HSV-II 活性,IC₅₀ 在 5~10 $\mu\text{g/mL}$ 之间。

表 5 LRA 对外周血细胞的转化

Table 5 Mitogenic activity of LRA toward human peripheral blood lymphocyte					
$\rho(\text{LRA})/\text{mg mL}^{-1}$	转化细胞数 Transformed cells	细胞分裂相 Cells in division	n_{cell}	转化率 Transformation ratio($r_t/\%$)	分裂率 Division ratio($r_d/\%$)
0.004	767		1054	72.77%	
0.008	1026		1201	85.45%	
0.012	741		972	76.24%	
0.012	741		972	76.24%	
0.016	932		1037	83.13%	
0.020	885	22	889	99.55%	2.47%

表 6 LRA 抗病毒试验结果

Table 6 Result of antiviral experiment of LRA							
Number	$\rho(\text{LRA})/\mu\text{g mL}^{-1}$						
	40	20	10	5	2.5	1.25	HSV - II
1	-	+	++	+++	+++	+++	+++
2	-	+	++	++	++++	++++	++++
3	-	-	++	++	+++	+++	+++

3 讨论

凝集素是自然界中广泛存在的一类非免疫原性的糖结合蛋白,单子叶甘露糖结合凝集素是一类来源于单子叶植物,能特异与甘露糖结合的凝集素. 单子叶甘露糖结合凝集素广泛存在于石蒜科、百合科、凤梨科、兰科和天南星科植物,是一类在结构和进化上密切相关的凝集素^[11]. 石蒜凝集素同大多数甘露糖专一结合的凝集素如雪花莲凝集素(GNA)、君子兰凝集素、水仙凝集素等一样,具有 3 个典型的甘露糖专一结合位点盒(QDNY),因此证明石蒜凝集素是甘露糖专一结合蛋白^[12]. 在实验中发现,甘露聚糖和甘露糖对红花石蒜凝集素有很好的糖抑制作用,说明 LRA 能与甘露糖结合,这与红花石蒜属于单子叶甘露糖结合凝集素家族相符.

蛋白结构的稳定性决定其生物学活性,由温度和 pH 对 LRA 的影响试验结果可知,即使在强酸强碱和高温下,LRA 的凝血活性并未受到太大的影响,表明在这些条件下,LRA 的凝血活性中心没有受到大的影响,其结构变化不大.

许多凝集素具有促有丝分裂活性,通过 LRA 对外周血淋巴细胞的试验可知,LRA 是一种较强的促有丝分裂原. 其促有丝分裂活性中心与糖结合活性中心是否相同,有待进一步试验阐明.

对单纯疱疹病毒的抑制实验发现,LRA 在 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度就可部分抑制 HSV - II,而在 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 对细胞也没有毒性,表明 LRA 是一种低毒性的体外抗 HSV - II 的生物活性糖结合蛋白. 由于 LRA 是一种糖结合蛋白,推测可以识别并结合 HSV - 细胞表面的糖链,从而封闭或阻断 HSV - II 与宿主细胞的识别和结合并降低感染,因此具有潜在的抗人类 II 型单纯疱疹临床应用价值. 在 HIV 的感染中,病毒表面糖蛋白 gp120 的高甘露糖型糖链起重要的作用,由于 gp120 的甘露糖基的介导作用,HIV 病毒粒子才能识别和结合并感染 CD4 细胞,最终导致爱滋病的发生. 阻断这一结合过程可有效降低 HIV 的感染. 正是基于这一点,目前以 GP120 糖链为靶防御 HIV 感染的药物已成为治疗爱滋病的首选药物,如糖基化抑制剂和结合糖链的化合物以及结合甘露糖型糖链的凝集素^[13]. 在甘露糖结合凝集素中,先后发现雪花莲凝集素(GNA)、水仙凝集素和兰科凝集素^[14,15]通过结合 GP120 的糖链显示出对人类 I 型和 II 型 HIV 病毒具有良好的抑制作用. 由于 LRA 具有甘露糖结合能力,且与 GNA、水仙凝集素和兰科凝集素氨基酸序列有很高的同源性,尤其是 3 个甘露糖结合位点高度保守,因此推测 LRA 对 HIV 病毒可能具有一定的抑制作用,下一步工作将探讨 LRA 对 HIV 的抑制作用.

References

1 Rodger P. Selectins: lectins that initiate cell adhesion under flow. *Cur Opi in Cell Biol*, 2002, **14**(5): 581 ~ 586

2 Jack DL, Vogel U, Tenner AJ, Frosch M, Turner MW, Klein NJ. Regulation of the inflammatory response to *Nelsseria meningitidis* B1940 by mannose - binding lectin. *Immunopharmacology. Microbes & Infect*, 2000, **49**: 88

3 Pillai DR, Kain KC. Recent developments in amoebiasis: the Gal/GalNAc lectins of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*, 2000, **2**(14): 1775 ~ 1783

4 Hirsch AM. Role of lectins (and rhizobial exopolysaccharides) in legume nodulation. *Cur Opi in Stru Biol*, 1999, **2**(4): 320 ~ 326

5 Weis WI. Cell - surface carbohydrate recognition by animal and viral lectins. *Cur Opi in Stru Biol*, 1997, **7**(5): 624 ~ 630

6 Minko T. Drug targeting to the colon with lectins and neoglycoconjugates. *Adv Drug Deli Rev*, 2004, **56**(4): 491 ~ 509

7 Gegg CV, Roberts DD, Segel IH. Characterization of the adenine binding sites of two *Dolichos biflorus* lectins. *Biochem*, 1992, **31**: 6938 ~ 6942

8 中国科学院植物研究所主编. 中国高等植物图鉴(第五册). 北京: 科学出版社, 2002. 549

9 Itoh M, Kondo K, Komada H, Izutsu K, Shimabayashi Y, Takahashi T. Purification and characterization of a lectin from phaseolus vulgaris seed. *Agric Biol Chem*, 1980, **44**: 125 ~ 133

10 黄祯祥, 洪涛, 刘崇柏. 医学病毒学基础及实验技术. 北京: 科学出版社, 1990. 130 ~ 139

11 van damme EJM, Peumans WJ, Annick B, Pierr R. Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. *Crit Rev in Plant Sci*, 1998, **17**(6): 575 ~ 692

12 YAO Jian - hong, SUN Xiao - fen, TANG Ke - xuan. Molecular cloning of lectin gene from *Lycoris radiata*. *J Fudan Univ (Nat Sci)*, 2002, **41**(1): 102 ~ 105

13 Turville SG, Cameron PU, Arthos J, MacDonald K, Clark G, Hart D. Bitter - sweet symphony: defining the role of dendritic cell gp120 receptors in HIV infection. *J Clin Virol*, 2001, **22**(3): 229 ~ 239

14 Balzarini J, Schols D, Neyts J, van Damme EJM, Peumans W, de Clercq E. $\alpha - (1 - 3) -$ and $\alpha - (1 - 6) - D -$ mannose - specific plant lectins are markedly inhibitory to human immunodeficiency virus and cytomegalovirus infections *in vitro*. *Antimicrobial Agents Chemother*, 1991, **35**: 410 ~ 416

15 Balzarini J, Neyts J, Schols D, Hosoya M, van Damme EJM, Peumans W, de Clercq E. The mannose - specific plant lectins from *Cymbidium hybrid* and *Epipacitis 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*. *Antiviral Res*, 1992, **18**: 191 ~ 207