Atividade hemaglutinante em sementes de *Bauhinia subclavata* Benth e *Crotalaria spectabilis* Roth

Hemagglutinating activity in *Bauhinia subclavata* Benth and *Crotalaria spectabilis* Roth seeds

DOI: 10.46814/lajdv3n3-033

Recebimento dos originais: 01/05/2021

Aceitação para publicação: 31/06/2021

Alana Alves Farias

Doutoranda em Neurociências (UFBA/UFRJ)

E-mail: farias_aa@hotmail.com

Wilian Rosário de Oliveira

Mestre em Biotecnologia (UFBA)

E-mail: mestrewilian@hotmail.com

Elda Nunes da Silva

Graduada em Ciências Biológicas (UNEB)

E-mail: elda.biologia@gmail.com

Evandro José Lima Rego

Universidade do Estado da Bahia – UNEB

Departamento de Ciências Exatas e da Terra – DCET II

Laboratório de Genética

E-mail: erego@uneb.br; ejlrego@gmail.com

RESUMO

Lectinas são proteínas de origem não imune, capazes de se ligar a carboidratos e aglutinar células normais e cancerígenas ou precipitar polissacarídeos. Embora isoladas em maior número de plantas, principalmente de sementes de leguminosas, apresentam distribuição universal ocorrendo desde vírus até mamíferos. Neste trabalho demonstramos a presença de lectinas nas sementes de duas espécies de leguminosas, *Bauhinia subclavata* Benth e *Crotalaria spectabilis* Roth, capazes de se ligarem de modo específico a receptores glicídicos presentes na superfície de eritrócitos humanos.

Palavras-Chaves: lectina, hemaglutinação, *Bauhinia subclavata*, *Crotalaria spectabilis*

ABSTRACT

A signaling cell is the basis for the triggering of many cellular processes. Among the molecules that mediate this mechanisms are simple carbohydrates or conjugates making up the cell surface membrane receptors and on the other proteins, particularly lectins, which would act by binding to these receptors to mediate different activities of cellular metabolism. In this study we verified the ability of protein extracts obtained from seeds of *Bauhinia subclavata* Benth and *Crotalaria spectabilis* Roth recognize receptors present on human erythrocytes promotes the agglutination of these cells.

Keywords: lectin, hemagglutination, *Bauhinia subclavata*, *Crotalaria spectabilis*

1 INTRODUÇÃO

Lectinas são proteínas de origem não imune, capazes de se ligar a carboidratos e aglutinar células ou precipitar polissacarídeos e glicoconjugados (GOLDSTEIN *et al.*, 1980). Este grupo heterogêneo de proteínas diferencia-se dos anticorpos já que não tem origem no sistema imunológico e também diferem das enzimas ligantes de carboidratos pois não modificam a estrutura do carboidrato ao qual se ligam, o que ocorre em processos enzimáticos. Entretanto, há lectinas que além do sítio de ligação lectínico, possuem um sítio enzimático (LORIS, 2002; SINGH *et. al.*, 1999; CUMMINGS, 1997). mas diferem de enzimas ligadoras de carboidratos como as glicosídeses, as glucanases e as quitanases, por que não modificam a estrutura do carboidrato ao qual se ligam, o que ocorre em processos enzimáticos.

Inicialmente isoladas de plantas apresentam distribuição universal ocorrendo desde vírus até mamíferos. Nas enterobactérias seriam essenciais na adesão ao epitélio intestinal; em fungos e em algumas leveduras, teriam ação na agregação e posterior floculação das células; nos invertebrados são encontradas na hemolinfa e teriam papel na resistência a infecções (SINGH *et. al.*, 1999). Em animais mais complexos, as lectinas são produzidas na forma solúvel ou se encontram ligadas à membrana (ZATTA e CUMMINGS, 1991). Nos venenos ofídicos, supostamente poderiam estar envolvidas em processos metabólicos da própria serpente, não agindo no animal exposto ao veneno (OGILVIE *et al.*, 1989). Uma lectina dependente de Ca^{2+} e específica para galactose foi purificada do pepino do mar, *Cucumaria echinata*; exibindo atividades hemolíticas e hemaglutinante (TOMOMITSU, 2020) Nas plantas estão distribuídas em todas as partes; mas apresentam maior concentração nas sementes, principalmente as das espécies da família Leguminosae. Entretanto, seu real papel é desconhecido, embora muitas hipóteses sobre suas funções fisiológicas tenham sido sugeridas.

Evidências permitem sugerir que as lectinas de sementes, de tecidos e rizomas (GREENWOOD *et al.*, 1986, NSIMBA-LUBAKIE e PEUMANS, 1986) seriam uma forma especializada de proteínas de armazenamento que podem ter, ocasionalmente, outras funções (ETZLER, 1985, PUSZTAI *et al.*, 1983, PUSZTAI, 1991). A presença das lectinas nas sementes estaria relacionada com papel destas como órgão responsável pela perpetuação da espécie, necessitando portanto, de substâncias que promovam a proteção da informação genética necessária à formação de um novo indivíduo.

Alguns experimentos sugerem que as lectinas podem ter papel no sistema de reconhecimento celular nas plantas superiores, como o que envolve a interação do pólen com o estigma apropriado. Este processo faz parte de um sistema de auto-incompatibilidade, pois impede a fertilização por autofecundação ou o cruzamento entre plantas com os mesmos alelos, o que ajuda na manutenção da heterogozidade por favorecer a polinização cruzada (FERRARI *et al.*, 1981; SANTOS SOUSA *et al.*, 2013).

As funções atribuídas às lectinas vegetais como agentes no mecanismo de defesa baseiam-se principalmente na capacidade apresentada por algumas lectinas de se ligarem à parede celular das bactérias. O papel defensivo das lectinas não seria restrito à ação bacteriana, mas impediria o

desenvolvimento de fungos e também o ataque de insetos predadores (TOMS, 1981; LEACH *et al.*, 1982; PUSZTAI, 1991; LIMA, 2017). A associação das bactérias à superfície radicular ocorre de modo específico e o primeiro a sugerir o papel das lectinas nesse processo foi Saint – Paul (1961), sem, contudo obter resultados conclusivos. Outros estudos sugerem que as lectinas atuam na organização celular, na embrio-morfogênese, no armazenamento ou transporte de carboidrato (MOREIRA *et al.*, 1991; RÜDIGER e GABIUS, 2001).

Certamente a presença nos variados tecidos aponta para diferentes papéis fisiológicos, sendo mais sensato considerá-las como multifuncionais, talvez tendo diferentes funções em uma planta ou diferentes funções em diferentes espécies.

De acordo com Sharon e Lis (1989) as lectinas têm papel fundamental no controle de vários processos normais e patológicos dos seres vivos. Nowell (1960) observou que a lectina presente em *Phaseolus vulgaris*, tinha a capacidade de estimular *in vitro* a transformação morfológica dos linfócitos e sua proliferação. Esta ação mitogênica possibilitou seu uso em estudos morfológicos e funcionais, particularmente dos linfócitos, assim como para o diagnóstico de imunodeficiências e monitoração dos efeitos de imunossuppressores e imunoterápicos (SHARON, 1993, FARIAS, 2015, OLIVEIRA, 2018).

Não há consenso quanto ao mecanismo de ação destas proteínas na ativação celular. Uma hipótese considera que a ligação aos receptores produz uma modificação da estrutura da membrana; disparando uma série de eventos bioquímicos no interior da célula que levam à ativação celular. Por outro lado, as lectinas poderiam agir de modo indireto, ou seja, as células modificadas pela ligação com a lectina estimulariam a proliferação de outros linfócitos, num mecanismo análogo ao que ocorre em uma reação de mistura de linfócitos, onde células de um genótipo causam estimulação de células de outro genótipo (LIS e SHARON, 1986).

Entender os mecanismos de ação pelos quais receptores e as moléculas sinalizadoras regulam os processos como metabolismo, adesão, proliferação e diferenciação celular, abre inúmeras possibilidades nas áreas da imunologia e oncologia, visto que a sinalização celular está diretamente envolvida no controle e na sobrevivência das células.

Estudos recentes relacionadas ao SARS-CoV-2 e o estabelecimento da COVID-19 mostram a participação de lectinas de diferentes modos no estabelecimento da infecção permitindo um melhor conhecimento dos mecanismos envolvidos da interação do vírus com os receptores da membrana celular (ERIKSSON *et al.* 2020; LENZA *et al.* 2020; RAHIMI, 2020; RAMBALDI *et al.*, 2020).

A mais conhecida propriedade das lectinas é a atividade aglutinante, sendo sua detecção realizada, principalmente, através do ensaio de hemaglutinação. (ERIKSSON *et al.*, 1973, REGO *et al.*, 2002). Entretanto, as lectinas podem apresentar ausência de atividade aglutinante em eritrócitos humanos ou não possuir especificidade para um determinado grupo sanguíneo, podem hemaglutinar eritrócitos de espécies diferentes e às vezes apresentar variação na capacidade de hemaglutinar a depender da origem geográfica da espécie vegetal (MACHUKA, 2000).

Neste trabalho demonstramos a presença de lectinas nas sementes de duas espécies de leguminosas, *Bauhinia subclavata* Benth e *Crotalaria spectabilis* Roth, capazes de se ligarem de modo específico a receptores glicídicos presentes na superfície de eritrócitos humanos.

3 METODOLOGIA

3.1 MATERIAL BIOLÓGICO

As sementes de *Bauhinia subclavata* Benth (Figura 1) foram coletas no *Campus II* da Universidade do Estado da Bahia – UNEB, localizado no município de Alagoinhas – BA, referenciada em 11° 55' 51'' e 12° 15' 23'' de latitude Sul e 38° 15' 00'' e 38° 35' 00'' de longitude Oeste.. As sementes de *Crotalaria spectabilis* Roth (Figura 2) foram obtidas junto ao Instituto Agrônomo de Campinas – IAC, Campinas – SP.

Figura 1 – *Bauhinia subclavata* Benth. Árvore, folha, flor, vagens e sementes.

Foto: Alana Farias

Figura 2 - *Crotalaria spectabilis* Roth: Frutos, Sementes.

Foto: Wilian Oliveira

3.2 EXTRAÇÃO PROTEICA

Aproximadamente 40 g de sementes inteiras de cada uma das espécies foram trituradas separadamente e a cada amostra foi adicionada uma solução de NaCl 0,15 M até a concentração final de 1/10 (m/v), permanecendo sob leve agitação por 1 hora em temperatura ambiente. A suspensão foi centrifugada a 5000 x g, por 20 minutos, sendo o precipitado descartado e o sobrenadante reservado.

A cada um dos sobrenadantes foi adicionado, sob agitação e lentamente, acetona à temperatura de 4°C até concentração final de 80% (v/v). Após um período de 30 minutos de decantação o material foi centrifugado a 5000 x g, por 20 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado proteico espalhado em placas de Petri e seco à temperatura ambiente. Depois de seco o material foi pulverizado e diluído em solução salina.

3.3 COLETA, PREPARAÇÃO DOS ERITRÓCITOS E ENSAIOS BIOLÓGICOS

Cerca de 4 ml de sangue A, B, AB e O foram coletados assepticamente, os eritrócitos foram lavados quatro vezes com solução salina (0,15M de NaCl), a 1000 x g durante 10 minutos à temperatura ambiente para cada 1 ml de sangue foi adicionado 4 ml de solução salina, até que as hemácias ficassem livres de plasma e leucócitos. O precipitado foi ressuspensão na mesma solução de modo a obter uma suspensão final de eritrócitos a 2% (v/v). Os testes de hemaglutinação foram realizados com os extratos salinos e cetônicos.

Os ensaios foram realizados em placas de microtitulação de 96 poços (Sigma Chemical Co USA) (12 colunas↓ e 8 fileiras→). Os primeiros poços das fileiras foram preenchidos com 50μl da amostra esta foi então diluída serialmente, com agitação e transferência de 50 μl para o poço seguinte até o penúltimo poço da fila. Terminadas as diluições, foram adicionados aos poços 50 μl de suspensão de eritrócitos a 2% (v/v). O volume final do ensaio foi de 100 μl, contendo 50 μl de solução salina, diluída com os extratos em estudo e 50 μl da suspensão de eritrócitos, exceto os poços da última coluna que continham apenas 50 μl de solução salina e 50 μl de suspensão de eritrócitos, pois estes correspondiam aos controles. As leituras foram feitas visualmente após incubação nos períodos de 1h, 6h, 12h, 18h e 24 h em temperatura ambiente, comparando-se com os respectivos controles negativos (somente a suspensão de eritrócitos em solução salina).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da capacidade aglutinante do extrato bruto e o precipitado proteico obtido das sementes de *Crotalaria spectabilis* Roth e *Bauhinia subclavata* Benth estão sumarizados na Tabela 1, indicando a reatividade das proteínas para os diferentes tipos sanguíneos testados.

As hemácias estão entre as melhores células para os testes de aglutinação. A lectina ao se adsorver as hemácias através de receptores existentes na superfície celular promove a aglutinação das, sendo este fenômeno denominado de hemaglutinação. Basicamente, hemácias em suspensão são colocadas em contato com uma suspensão da lectina. Por ação da gravidade, na ausência de lectina ou de lectina não específica as hemácias sedimentam na forma de um botão compacto no fundo do poço e as hemácias aglutinadas sedimentam de forma difusa formando uma rede de células que recobre o fundo do poço.

Os resultados positivos foram detectados visualmente após um período de 1 hora de incubação através da formação de uma rede de hemácias que se mantinha cobrindo todo o poço desde as laterais até o fundo (Figura 3, Figura 4).

Testes com o extrato bruto de *Bauhinia subclavata Benth* revelaram menor especificidade deste material (Tabela 2 e 3), em relação ao extrato proteico, o que é explicado pelo fato do extrato bruto apresentar outros componentes que causam interferência no processo de reconhecimento dos receptores celulares. O precipitado proteico mostrou maior capacidade de aglutinação dos eritrócitos humanos, justamente por conter apenas proteínas.

Figura 3 – Preparação das placas para o ensaio de aglutinação celular

Foto: Wilian Oliveira

Figura 4 – A sem atividade. B atividade aglutinante

Foto: Alana Farias

Tabela 1 – Atividade hemaglutinante

Tipos Sanguíneos	<i>Crotalaria spectabilis</i>	<i>Bauhinia subclavata</i>
A	+	+
B	-	+
AB	-	+
O	+	-

O material de *Crotalaria spectabilis* Roth mostrou especificidade apenas para os tipos sanguíneos A e O, não reagindo positivamente aos tipos B e AB, enquanto os ensaios realizados a partir das amostras de *Bauhinia subclavata* Benth, que a proteína presente tem a capacidade de interagir com os tipos sanguíneos A, B e AB, e do mesmo modo que *Bauhinia subclavata* Benth é não reagente para o tipo O, conforme os dados apresentados nas tabelas 2 e 3, respectivamente.

A ausência de reatividade aos eritrócitos tipo B e AB (*Crotalaria spectabilis* Roth) e tipo O (*Bauhinia subclavata* Benth) foi verificada tanto para os extratos brutos e proteicos, o que demonstra que não foram elementos presentes no extrato bruto que inibiram a hemaglutinação, mas apontam real incapacidade da estrutura das proteínas destas espécies em reconhecer as porções glicídicas presentes nas superfícies destes diferentes eritrócitos.

Testes com o extrato bruto de *Bauhinia subclavata* Benth revelaram menor especificidade deste material (Tabela 3), em relação ao extrato proteico, o que é explicado pelo fato do extrato bruto apresentar outros componentes que causam interferência no processo de reconhecimento dos receptores celulares. Já os testes realizados com o precipitado proteico mostraram maior capacidade de aglutinação dos eritrócitos humanos, justamente por apresentar apenas proteínas. Somente se verifica hemaglutinação em relação aos eritrócitos tipo B e AB quando os ensaios são realizados com o extrato proteico.

A ligação da lectina aos receptores da membrana pode ser influenciada ou inibida por ácidos siálicos, aminas heterocíclicas, carboidratos, alguns íons metálicos ou se os receptores presentes nas células não forem suficientes ou estejam inacessíveis. Portanto, a remoção do ácido siálico da superfície celular aumenta a aglutinação devido à diminuição da repulsão eletrostática entre as células e as lectinas, além de permitir a sensibilidade dos receptores da membrana. Assim, certas lectinas não aglutinam eritrócitos a não ser que sejam pré-tratadas com enzimas (REGO *et al.*, 2002). A tripsinação das hemácias altera sua superfície pela remoção do ácido siálico da superfície celular e como resultado diminuindo a repulsão eletrostática entre as células e as lectinas; além de permitir a interação com potenciais receptores da membrana que se encontrem obstruídos, tornando maior a sensibilidade do sistema. O emprego de lectinas purificadas também oferece maior sensibilidade e especificidade ao ensaio.

A região molecular da lectina que reconhece e interage com uma sequência específica do açúcar é denominada domínio de reconhecimento de carboidrato – CDR (carbohydrate recognition domain) e está presentes em todas as subunidades da lectina (DRICKAMER, 1993). O sítio para ligação descrito em detalhes

para a concanavalina A (HARDMAN *et al.*, 1982) e tem se mostrado bastante conservado em todas outras lectinas de leguminosas (LORIS *et al.*, 1998).

As lectinas de plantas podem ser classificadas quanto ao número de CRD que apresentam. As merolectinas têm pelo menos um CRD, as hololectinas compreendem as lectinas com dois ou mais domínios idênticos ou muito similares, as quimerolectinas ou hemilectinas são aquelas que consistem de um ou mais CRD e mais um domínio distinto com atividade catalítica ou com outra atividade biológica, as superlectinas também possuem pelo menos dois CRD, mas difere das hololectinas na capacidade de reconhecer açúcares estruturalmente não relacionados.

As evidências experimentais apontam para o papel das lectinas e dos carboidratos em muitos dos eventos que envolvem reconhecimento celular, resultado das interações entre estas moléculas, proporcionando a seletividade das reações (NILCOLSON, 1974; SHARON e LIS, 1989), que influenciariam ou controlariam processos fisiológicos como câncer, fertilização, embriogênese, migração, proliferação e diferenciação celulares, defesa imunológica, infecção por bactérias e vírus.

Pode-se determinar o tipo de carboidrato presente na superfície celular adicionando-se ao ensaio diferentes açúcares e verificando qual deles é capaz de inibir a aglutinação. Ao se ligar a lectina o açúcar impede o reconhecimento de receptores celulares. Este é o princípio da reação de inibição da hemaglutinação. Os tipos sanguíneos “A” e “O” apresentam na superfície celular α -N-acetil-D-galactosamina e α -L-fucose, respectivamente. Assim, estes açúcares se adicionados aos ensaios seriam capazes de bloquear a ação da lectina. Esta evidência abre a perspectiva de controle de processos fisiopatológicos que sejam mediados pela ligação de lectinas às porções glicídica superfície celular.

Tabela 2: Atividade Aglutinante de *Crotalaria spectabilis* Roth.

Tipos Sanguíneos	Extrato Salino	Extrato Cetônico
A	+	+
B	-	-
AB	-	-
O	+	+

Tabela 3 – Atividade Aglutinante de *Bauhinia subclavata* Benth

Tipos Sanguíneos	Extrato Salino	Extrato Cetônico
A	+	+
B	-	+
AB	-	+
O	-	-

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As características moleculares das lectinas permitem sua utilização como uma notável ferramenta biotecnológica em áreas que requerem a compreensão dos processos biológicos envolvidos no reconhecimento celular, como pesquisas sobre câncer, imunologia, caracterização e diferenciação de células. Além disto, permite a sua utilização como um marcador molecular em estudos de evolução filogenética e especiação, já que os dados moleculares auxiliam quando há diferentes hipóteses quanto a uma classificação. As pesquisas envolvendo as lectinas, ainda possibilitam uma melhor compreensão do papel destas proteínas nos vegetais. Assim, a presença de lectinas nas sementes de *Crotalaria spectabilis* Roth e *Bauhinia subclavata* Benth traz perspectivas de novos estudos envolvendo estas moléculas.

REFERÊNCIAS

- CUMMINGS, R. D. Lectins as tool for glycoconjugate purification and characterizations. Glyco-science, status e perspectives. Capitulo 10. Ed. Gabius. Germany, 1997
- DRICKAMER, K.; TAYLOR, M. E. Biology of animal lectins. *Annu. Rev. Cell Biol.*, n. 9, p. 237-264. 1993.
- ERSSON, B.; ASPBERG, K.; PORATH, J. The Phytohemagglutinin from sunn hemp seeds (*Crotalaria juncea*). Purification by biospecific affinity chromatography. *Journal Biochimica et Biophysica Acta*, v. 310, n. 2, p. 446-452, 1973.
- ERIKSSON, O. *et al.* Mannose-Binding Lectin is Associated with Thrombosis and Coagulopathy in Critically Ill COVID-19 Patients. *Thromb Haemost.* Dec;120(12):1720-1724, 2020
- ETZLER, M. E. Plant lectins: Molecular and biological aspects. *Annual Review of Plant Physiology*, n. 36, p.209-234, 1985.
- FERRARI, T. E.; BRUNS, D.; WALLECE, D. H. Isolation of plant glycoprotein involved with the control on intercelular recongnition. *Plant. Physiol*, n. 67, p. 270-277. 1981.
- FARIAS, A. A. Análise da marcação de células da linhagem C6 de glioma com as lectinas vegetais CpL, WGA e Con A. Dissertação de Mestrado- UFBA/FIOCRUZ-BA, Salvador, 2015.
- GOLDSTEIN, I. J. *et al.* What should be called a lectin. *Nature*, 285: 66, 1980.
- GREENWOOD, J.S. *et al.* *Sambucus nigra* agglutinin is located in protein bodies in the phloem parenchyma of the bark. *Plant*, n. 167, p. 257-258, 1986.
- HARDMAN, K. D.; AGARWAL, R. C.; FREISER, M. J. Manganese and calcium binding sites of concanavalina A. *J. Mol. Biol*, n.157, p. 69-89. 1982.
- LEACH, J. E.; CANTRELL, M. A.; SERQUEIRA, L. Hydroxproline-rich bacterial agglutinin from the potato. Extraction, purification and characterization. *Plant Physiology*, n.70, p. 1358-1358, 1982.
- LENZA, M. *et al.* Structural Characterization of N-Linked Glycans in the Receptor Binding Domain of the SARS-CoV-2 Spike Protein and their Interactions with Human Lectins. *Angew Chem Int Ed Engl* Dec 21;59(52):23763-23771, 2020.
- LIMA, T. E, Sartori, A. L. B, RODRIGUES, M. L. M. Plant antiherbivore defenses: in Fabaceae species of the Chaco. *Braz J Biol.* Apr-Jun;77(2):299-303, 2017.
- LIS, H.; SHARON, N. Lectins as molecules and as tools. *Journal Annual Review Biochemistry*, v. 55, p. 35-67, 1986.
- LORIS, R. *et al.* Legume lectin structure. *Journal Biochim Biophys Acta*, v. 1383, p. 9-36, 1998.
- LORIS, R. *et al.* Legume lectin structure. *Journal Biochim Biophys Acta*, v. 1383, p. 9-36. 2002.
- MACHUKA, J. Characterization of seed proteins of velvet bean (*Macuna pruriens*) from Nigeria. *Journal Food Chemistry*, mar, v. 68, n. 4, p. 421-427, 2000.
- MOREIRA, R. A. *et al.* Plant lectin, chemical and biological aspects. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, n. 86, p. 211-218, 1991.

- NICOLSON, G. L. The interactions of lectins with animal cell surfaces. *Int. Rev. Cytol.* v. 39, p. 89-190, 1974.
- NOWELL, P. C. Phytohemagglutinin: in initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer Res.* v. 20, p. 462-466, 1960.
- NSIMBA-LUBAKI, M.; PEUMANS, W. J. Seasonal fluctuation of lectins in barks of Elderberry (*Sambucus nigra*) and Black locust (*Robinia pseudoacacia*). *Plant Physiology*, n. 80, p. 747-751, 1986.
- OGILVIE, M. L.; BYL, J. A.W.; GARTNER, T. K. Platelet aggregation is stimulated by lactose-inhibitable snake venom lectins. *Thromb. Haemostasis*, n. 62, p. 704-707, 1989.
- OLIVEIRA, W. R. de ; REGO, E. J. L. *et al.* . Isolation, characterization and analysis of the agglutinative activity of a lectin from *Crotalaria spectabilis*. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, v. 1, p. 1-5, 2018.
- PUSZTAI, A. Plant lectin. Cambridge University Press, Cambridge, 1991.
- PUSZTAI, A. *et al.* Seed lectins: Distribution, location and biological role. In Seed Proteins (Daussant, J., Mosse, J. & Vauganh, J. eds.). Academic Press, New York, p.53-82, 1983.
- REGO, E. J. L. *et al.* Lectins from seeds of *Crotalaria pallida* (smooth rattlexbox). *Journal Phytochemistry*, jul, v. 60, n. 5, p. 441-446, 2002.
- RAHIMI, N. C-type Lectin CD209L/L-SIGN and CD209/DC-SIGN: Cell Adhesion Molecules Turned to Pathogen Recognition Receptors. *Biology (Basel)*. Dec 22;10(1):1, 2020.
- RAMBALDI, A.*et al.* Endothelial injury and thrombotic microangiopathy in COVID-19: Treatment with the lectin-pathway inhibitor narsoplimab. *Immunobiology*. Nov;225(6):152001, 2020
- RÜDIGER, H.; GABIUS, H. J. Plant lectins: Occurrence, biochemistry, functions and applications. *Journal Glycoconjugate*, aug, v. 18, p. 589-613, 2001.
- SANTOS SOUSA, A. dos; REGO, E. J. L.; RIBEIRO , F. de A. R. Viability and Action of CPL Lectin on in Vitro Germinability of Pollen Grains of *Malpighia emarginata* DC.-(Malpighiaceae). *American Journal of Plant Sciences*, v. 04, p. 53-58, 2013.
- SAINT-PAUL, M. Les hemaglutinines végétales. *Transfusion*, n. 4, p. 3-37, 1961.
- SHARON, N.; LIS, H. Lectins as cell recognition molecules. *Science*, n. 246, p. 227-234, 1989.
- SHARON, N. Lectin-carbohydrate complexes of plants and animals: an atomic view. *Trends in Biochemical Science*, v. 18, p. 221-226, 1993.
- SINGH R, S.; TIWARY, A. K.; KENNEDY, J. F. Lectins: Sources, Activities and Applications. *Journal Critical Reviews in Biotechnology*, mar, v.19, n. 2, p. 145-178, 1999.
- TOMOMITSU, H. Galactose-Specific, Hemolytic Lectin CEL-III from *Cucumaria echinata*. *Methods Mol Biol* 2132:159-164, 2020.
- TOMS, G. C. A. Lectins in Leguminosae. In: *Advances in Legumes Systematic* (Polhill, R. M. & Raven, P. H., eds.). Royal Botanic Garden, Kew. 1981.
- ZATTA, P. F.; CUMMINGS, R. D. Lectins and their uses as biotechnological tools. *Journal Biochemical education*, jan, v. 20, n. 1, p. 2-9, 1991.