

RESUMO

Lectinas são proteínas ou glicoproteínas que se ligam a carboidratos específicos. Algumas delas exibem atividade mitogênica sobre linfócitos humanos *in vitro* ou são tóxicas para estas células em cultura. Estas propriedades estão envolvidas com o sítio de ligação a carboidratos. Neste trabalho foi determinada a atividade mitogênica das lectinas de *Cratylia mollis* (Cra-Sephadex e Cra Iso 1) sobre linfócitos humanos através de um ensaio colorimétrico que tem como princípio a redução do 3- (4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio (MTT), através de uma enzima mitocondrial tetrazólio-succinato-desidrogenase, em MTT-formazan, um produto de coloração azul escuro. As isoformas de *C. mollis* foram purificadas seguindo um protocolo estabelecido. Os linfócitos foram isolados do sangue periférico humano através de um gradiente de densidade dado pelo histopaque. Amostras de lectinas (Cra Sephadex, Cra-Iso 1, concanavalina A, Con-A e fitohemaglutinina, PHA) em variadas concentrações, foram utilizadas para este ensaio. Posteriormente, foi realizado um ensaio de inibição da atividade mitogênica utilizando o carboidrato metil α -D-manosídeo. Os resultados obtidos foram expressos em índice de proliferação (PI, do inglês: Proliferation Index), o qual representa a razão entre a absorbância da proliferação na presença e na ausência de lectina. Ambas as lectinas de *C. mollis* são mitogênicas. Os efeitos destas lectinas são comparáveis com aquelas lectinas mitogênicas, como con-A e PHA. A inibição da proliferação de linfócitos, com o carboidrato ligante, indicou que esse efeito mitogênico está envolvido com sítio de ligação da lectina.

ABSTRACT

Lectins are proteins or glycoproteins that bind to specific saccharides. Several of them exhibit mitogenic activity on lymphocytes in vitro or are toxic in cultured cells. These properties are involved with carbohydrate binding sites. In this work it was determined the mitogenic activity of *Cratylia mollis* lectins (Cra-Sephadex and Cra-Iso 1) on human lymphocytes through a colorimetric assay that is based upon the reduction of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium (MTT), through a mitochondrial enzyme tetrazolium-succinate-desidrogenase, in MTT-formazan, which is a dark colored product. The isoforms of *C. mollis* are purified following a previously established protocol. Lymphocytes were previously isolated from the periferic human blood through a density gradient given by histopaque. Lectin samples (Cra-Sephadex, Cra Iso 1, concanavalina A, Con-A and phytohaemagglutinine, PHA) at different concentrations were utilized in this assay. Subsequently it was performed a mitogenic activity inhibition assay utilizing the carbohydrate methyl α -D-mannoside. The obtained results were expressed as a proliferation index, PI, which stands for the ratio between the proliferation absorbance in the presence and in the absence of the lectin. Both *C. mollis* lectins are mitogenic and the effects of these lectins are comparable to the mitogenic lectins, such as Con-A and PHA. The inhibition of the lymphocyte proliferation utilizing the binding carbohydrate indicated that these mitogenic effect to be involved to the lectin binding site.