

И.В. ЧИКАЛОВЕЦ, В.И. МОЛЧАНОВА, Т.О. МИЗГИНА,
А.П. ФИЛЬШТЕЙН, П.А. ЛУКЪЯНОВ, О.В. ЧЕРНИКОВ

Углеводсвязывающие белки и полисахариды морских гидробионтов

Морские организмы являются перспективным объектом для выделения биологически активных соединений. В лаборатории химии неинфекционного иммунитета ТИБОХ ДВО РАН в течение ряда лет проводятся исследования по выделению лектинов и полисахаридов из морских гидробионтов, изучаются их структуры, физико-химические свойства и биологическая активность. Из двустворчатых моллюсков были выделены лектины, обладающие иммуностимулирующей, антибактериальной и противоопухолевой активностью. Установлено, что они принимают участие во врожденном иммунитете моллюсков. Выделены и охарактеризованы полисахариды неомитилан и кораллан, проявляющие иммуностимулирующее действие, которое усиливается при получении низкомолекулярных фрагментов полисахаридов.

Ключевые слова: лектины, полисахариды, морские беспозвоночные, биологическая активность.

Carbohydrate-binding proteins and polysaccharides of marine hydrobionts. I.V. CHIKALOVETS^{1, 2}, V.I. MOLCHANOVA¹, T.O. MIZGINA^{1, 2}, A.P. FILSHEIN¹, P.A. LUKYANOV¹, O.V. CHERNIKOV¹ (G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok; ²Far Eastern Federal University, Vladivostok).

Marine organisms are a promising object for the isolation of biologically active compounds. For a number of years, studies have been conducted at the Laboratory of Chemistry of Non-Infectious Immunity of the PIBOC FEB RAS for the isolation of lectins and polysaccharides from marine hydrobionts. Its structure, study of the physicochemical properties and biological activity have been studied. Lectins possessing immunostimulating, antibacterial and antitumor activities were isolated from bivalve mollusks. It was established that they are involved in the innate immunity of mollusks. Neomitilane and corallan polysaccharides were isolated and characterized, exhibiting an immunostimulating effect, enhancing upon receipt of low molecular weight fragments.

Key words: lectins, polysaccharides, marine invertebrates, biological activity.

Соединения, выделенные из морских биологических источников (цианобактерий, водорослей, беспозвоночных животных и рыб), представляют большой интерес как потенциальные биоактивные вещества. Благодаря фармакологическим свойствам они нашли применение в фармацевтической индустрии и производятся в качестве пищевых компонентов. Проводятся дальнейшие исследования этих соединений с целью разработки новых противовирусных, антимикробных, противоопухолевых и противовоспалительных лекарств [23, 24].

ЧИКАЛОВЕЦ Ирина Владимировна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник (Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Дальневосточный федеральный университет, Владивосток), МОЛЧАНОВА Валентина Ильинична – кандидат химических наук, старший научный сотрудник (Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток), МИЗГИНА Татьяна Олеговна – младший научный сотрудник (Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Дальневосточный федеральный университет, Владивосток), ФИЛЬШТЕЙН Алина Петровна – младший научный сотрудник, ЛУКЪЯНОВ Павел Александрович – доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник, *ЧЕРНИКОВ Олег Викторович – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией (Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток). *E-mail: chernikov@piboc.dvo.ru

В течение ряда лет в лаборатории химии неинфекционного иммунитета ТИБОХ ДВО РАН проводятся исследования по выделению лектинов и полисахаридов, изучаются их структуры, физико-химические свойства и биологическая активность.

Лектины – это белки или гликопротеины неиммунной природы, специфически и обратимо связывающие моно- и олигосахариды [22]. Будучи открытыми более 100 лет назад, они оказались в центре внимания биологов только в последние годы, когда было показано, что углеводбелковое взаимодействие является важным механизмом передачи биологической информации на уровне клетки. Лиганды лектинов – углеводы, формируют гликокаликс клетки, который играет огромную роль в процессе жизнедеятельности организма. Быстрое развитие исследований в области гликобиологии позволило выявить ключевую роль лектинов в межклеточных взаимодействиях, что резко увеличило интерес к ним. В настоящее время масштабы этих исследований и их характер таковы, что можно говорить о самостоятельной области науки – лектинологии [17]. Через углеводбелковое узнавание осуществляются такие важные биологические процессы, как оплодотворение, проникновение инфекции в клетки хозяина, миграция лейкоцитов к месту воспаления, а также процессы малигнизации и метастазирования. Благодаря способности распознавать углеводные структуры на поверхности клеток, а также влиять на клеточные процессы лектины нашли широкое применение в биологии и медицине. Они используются для анализа групп крови, выделения определенного типа клеток, например незрелых форм лимфоцитов при трансплантации костного мозга, применяются для очистки биологических жидкостей [21]. Известно, что некоторые патологические процессы, такие как неопластическая трансформация, сопровождаются изменением гликозилирования и экспрессией на поверхности опухолевых клеток углеводных маркеров малигнизации. Такие специфические углеводные детерминанты могут быть выявлены с помощью лектинов. Это позволяет использовать их как инструмент для изучения механизмов малигнизации и в практической онкологии для ранней и дифференциальной диагностики заболевания [4].

На сегодняшний день присутствие лектинов обнаружено в различных тканях (лимфе, слизи поверхности тела, гонадах и др.) у более 300 видов морских беспозвоночных (кишечнополостных, членистоногих, иглокожих, хордовых и др.). В результате исследований сотрудниками лаборатории было открыто несколько новых лектинов, обладающих широким спектром биологической активности – антибактериальной, цитокиностимулирующей, анти-ВИЧ [1, 10, 20], найдены источники лектинов среди наиболее распространенных промысловых видов мидий семейства *Mytilidae*, которые имеют обширный ареал обитания и являются одним из важнейших объектов марикультуры, выделены Gal/GalNAc-специфичные лектины из мидий *Crenomytilus graynus* (CGL) [6] и *Mytilus trossulus* (MTL) [14]. Из мускула гребешка *Patinopecten yessoensis* был выделен Gal/GalNAc-специфичный лектин (PYL) [13], а из двустворчатого моллюска *Glycymeris yessoensis*, образующего промысловые скопления, – маннанспецифичный лектин (GYLman).

Первичная структура и филогенетический анализ показали, что CGL не относится ни к одному из известных на сегодняшний день классов лектинов [19] и проявляет высокую степень гомологии (88 %) только с MTL [12] и лектином из мидии *Mytilus galloprovincialis* (MytiLec), выделенным японскими учеными [16]. При установлении тонкой углеводной специфичности CGL [9] методом микроанализа на гликоципах было изучено связывание CGL с более чем 600 углеводными структурами. Оказалось, что лектин, также как и MytiLec, взаимодействует только с Gal и GalNAc на невосстанавливаемом конце углеводной цепи лигандов. При этом связывание с α -аномерами оказалось более сильным, чем с β -аномерами. Анализ наиболее распространенных мотивов гликанов для CGL показал высокое сродство к структуре Gal α 1-4Gal β 1-4GlcNAc, сходной с глоботрезозой (Gb3:Gal α 1-4Gal β 1-4Glc), эпитопом глоботриазилцерамида. Мы выявили, что CGL распознает Gb3 на поверхности клеток Raji лимфомы Беркитта, отличающиеся высокой экспрессией Gb3, что приводит к дозозависимому цитотоксическому эффекту, аресту клеточного цикла в фазе G2/M и апоптозу. Лектин не влияет на клетки эритролейкемии K562,

которые не экспрессируют Gb3. Активность CGL ингибируют α -галактозиды [9]. Наши результаты предполагают, что CGL имеют потенциал для использования в диагностике и лечении рака. На основании полученных кристаллических структур CGL и MytiLec показано, что их мультивалентные димерные формы являются критическими для цитотоксического эффекта.

Повсеместное присутствие лектинов в природе и их способность различать близкие по структуре углеводы в растворе и на клеточной поверхности обеспечивают неослабевающий интерес исследователей к изучению их биологических функций.

Функциональную роль CGL, MTL, GYLman и PYL устанавливали, определяя их уровень после иммунизации животных бактериями *Vibrio proteolyticus*, изолированными из мест обитания моллюсков. Во всех случаях наблюдалось изменение содержания лектинов в ответ на бактериальное заражение, что позволяет предположить их участие в защите организма беспозвоночного от воздействия внешних патогенов. Интересные результаты были получены при иммунизации моллюсков *G. yessoensis* суспензией дрожжей *Pichia pastoris* с одновременным выдерживанием их в аквариумах с дизельным топливом. Уровень лектина через двое суток увеличился в 15 раз по сравнению с исходным уровнем, в то время как в группе с добавлением только дизельного топлива он возрос в 7,5 раз, а с *P. pastoris* – в 5 раз. Моллюски, будучи придонными фильтраторами, являются биоиндикаторами загрязнения. Мидии, к примеру, выбраны в качестве объекта для международных программ мониторинга прибрежных вод. Поэтому лектины, такие как GYLman, могут служить маркерами загрязнения морской среды.

Морские организмы находятся в постоянном контакте с окружающей средой, содержащей высокую концентрацию патогенных грибов, бактерий и вирусов. Распознавание углеводных детерминант на поверхности патогена играет важную роль в системе защитных реакций врожденного иммунитета различных групп животных. В настоящее время углеводраспознающие рецепторы, равно как и сквенджер- и толлподобные рецепторы, относят к группе паттернраспознающих молекул, которые связываются со специфическими молекулярными паттернами (известны как ассоциированные с патогенами молекулярные паттерны, или ПАМП) определенных микроорганизмов. Лектины, взаимодействующие с ПАМП, объединяют в группу, получившую название паттернраспознающие рецепторы (ПРР) [11]. Для определения принадлежности наших лектинов к таким рецепторам была изучена их способность связываться с основными видами ПАМП – ЛПС, пептидогликаном, β -1,3-глюканом (рис. 1).

CGL предпочтительней взаимодействовал с ЛПС, а MTL – с пептидогликаном, что обусловлено различием в углеводсвязывающих сайтах этих лектинов. Результаты связывания

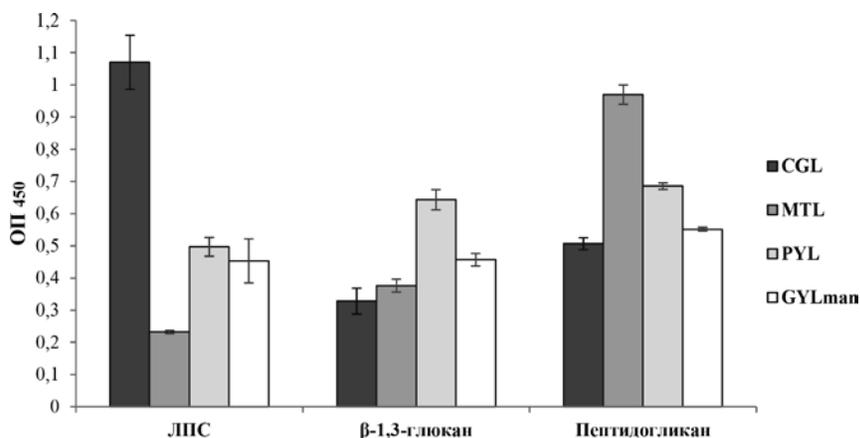


Рис. 1. Связывающая активность лектинов с различными ПАМП, определенная методом твердофазного лектинферментного анализа и измеренная при 450 нм

лектинов непосредственно с микробиальными клетками представлены в табл. 1.

Таблица 1

Антибактериальная и антифунгальная активность лектинов

Микроорганизм	Связывающая активность*			
	CGL	MTL	PYL	GYLman
<i>Candida albicans</i>	0,65 ± 0,01	0,44 ± 0,05	0,74 ± 0,09	0,69 ± 0,03
<i>Vibrio proteolyticus</i>	1,42 ± 0,04	0,37 ± 0,14	0,68 ± 0,11	0,64 ± 0,01
<i>Escherichia coli</i>	1,63 ± 0,09	0,48 ± 0,06	0,98 ± 0,04	1,55 ± 0,01
<i>Bacillus subtilis</i>	0,74 ± 0,07	0,26 ± 0,07	0,53 ± 0,06	0,55 ± 0,01
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,39 ± 0,06	0,49 ± 0,01	0,66 ± 0,08	0,69 ± 0,01

* Связывающая активность определена методом твердофазного лектинферментного анализа и измерена при длине волны 450 нм.

Все лектины связывались как с грамположительными, так и с грамотрицательными бактериями, подтверждая, таким образом, вывод, что ведущая роль в системе защиты беспозвоночных от микробного вторжения отводится лектинам, которые обладают способностью агглютинировать различные микроорганизмы, лишая последних способности дальнейшего рассеивания и внедрения в ткани.

Лектины из морских источников благодаря их способности узнавать гликопротеины, гликолипиды, протеогликаны и бактериальные липополисахариды определенных клеточных типов участвуют в физиологических и патологических процессах, включая взаимодействие между хозяином и патогеном, межклеточные коммуникации, доставку белков и защиту от внешних патогенов [17]. Такое поведение делает их пригодными для диагностики и терапии, открывая, таким образом, новое направление для поиска и создания лекарств.

Не менее перспективное направление в создании биологически активных соединений – поиск и выделение полисахаридов из морских гидробионтов. На основе современных знаний и результатов наших более ранних исследований полисахаридов из различных видов морских организмов, обитающих в различных районах Мирового океана, были получены данные, подтверждающие, что общим свойством морских беспозвоночных является продуцирование ими биогликанов (полисахаридов и гликоконъюгатов) с различной химической структурой. Они присутствуют в виде гомогликанов с различными типами гликозидных связей и гетерогликанов, сульфатированных или несulfатированных. Такие гликаны иногда связаны с белком в виде полисахаридбелковых комплексов.

В последние несколько десятилетий биологическая активность полисахаридов привлекает все больше внимания в биохимии и медицине. Наиболее перспективными биофармакологическими активностями этих биомолекул считаются их иммуномодулирующее и противоопухолевое действия. Многочисленные сообщения указывают на то, что большинство полисахаридов или полисахаридбелковых комплексов из морских источников не имеют прямого цитотоксического влияния на опухолевые клетки. Противоопухолевое действие они оказывают преимущественно опосредованно. Возможно, в некоторых случаях эти два типа ингибирующих действия могут проявляться одновременно [8].

Из мидии *Crenomytilus grayanus* нами выделен биогликан – неомитилан, являющийся разветвленным гликогеноподобным 1,6-, 1,4- α -D-глюканом с молекулярной массой 2×10^6 кДа, изучены его физико-химические и биологические свойства. Показано, что неомитилан обладает противовоспалительным, ранозаживляющим, радиозащитным и иммуномодулирующим действием и может стимулировать образование активных форм кислорода (АФК) в перитонеальных макрофагах. Кроме того, он стимулирует фагоцитоз перитонеальных макрофагов интактных мышей *in vitro* и индуцирует синтез провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-6 и ИФН- γ [2, 5, 15]. Однако высокая молекулярная масса и сильная вязкость растворов многих полисахаридов из морских ресурсов ограничивают их фармацевтическое применение. Из-за высокой молекулярной массы и пониженной

растворимости в воде нативные полисахариды обычно плохо усваиваются и обладают низкой биологической активностью. Кроме того, полисахариды с высокой молекулярной массой, непосредственно вводимые в организм, могут быть токсичными, что ограничивает их применение. Следовательно, олигосахариды или фрагменты полисахаридов с низкой молекулярной массой, полученные посредством химической или ферментативной деградации, могут быть использованы для снижения иммуногенности и повышения биологической активности. Химические модификации полисахаридов дают возможность получить новые фармакологические средства с потенциальным терапевтическим эффектом.

Для получения низкомолекулярных фрагментов неомитилан был подвергнут последовательной кислотной и ферментативной обработке, моделирующей условия желудочно-кишечного тракта. В результате было получено несколько фрагментов с молекулярной массой >100, >10, >1 и <1 кДа. Химический анализ и ¹³C ЯМР-спектроскопия фрагментов неомитилана с молекулярной массой >100 и >10 кДа показали, что только некоторые гликозидные связи были расщеплены без разрушения основной углеводной цепи полисахарида. Фрагменты неомитилана с массой >1 и <1 кДа содержали в своем составе глюкозу и мальтоолигосахариды и из-за малых количеств в дальнейшем не изучались.

Проведено сравнительное исследование некоторых иммуностимулирующих свойств исходного неомитилана и его фрагментов, в частности цитокиностимулирующей и лизосомальной активности. Цитокины представляют собой группу полипептидных медиаторов, участвующих в формировании и регуляции защитных реакций организма и осуществляющих взаимосвязь между неспецифическими защитными реакциями и специфическим иммунитетом. Уровни содержания цитокинов отражают текущее состояние иммунной системы и развитие иммунного ответа [3].

Цитокиностимулирующую активность неомитилана и его фрагментов с молекулярной массой >100 и >10 кДа изучали на клетках периферической крови человека. Было исследовано влияние полисахаридов на спонтанную и индуцированную продукцию провоспалительных (ФНО-α, ИФН-γ) и противовоспалительных (ИЛ-10, ИЛ-4) цитокинов. Для индукции синтеза цитокинов использовали липополисахарид клеточной стенки *E. coli*. В табл. 2 представлены результаты синтеза цитокинов клетками крови под действием полисахаридов по сравнению с контрольными клетками.

Таблица 2

Влияние неомитилана и его фрагментов на спонтанную и индуцированную продукцию цитокинов

Образец	Концентрация, мкг/мл	Увеличение продукции цитокинов, %					
		ФНО-α	ФНО-α (с ЛПС)	ИФН-γ	ИФН-γ (с ЛПС)	ИЛ-10	ИЛ-10 (с ЛПС)
Неомитилан	100	4501,15	-6,26	5,23	-4,93	68,81	13,09
	10	717,73	-12,06	-79,68	36,61	220,17	-2,65
Фрагменты с молекулярной массой							
>100 кДа	100	8067,41	22,28	178,85	14,78	1773,54	59,66
	10	7505,51	2,14	120,97	40,84	226,47	36,16
>10 кДа	100	22 174,17	14,23	452,43	56,33	2013,21	67,67
	10	1024,88	-10,15	-31,66	35,20	-25,50	38,06

Как видно из табл. 2, фрагменты неомитилана в концентрации 100 и 10 мкг/мл оказывали стимулирующее воздействие на спонтанную продукцию ФНО-α. Особенно это заметно в случае спонтанной продукции цитокина. С уменьшением молекулярной массы полисахарида происходит увеличение его синтеза, образец с массой >10 кДа оказался наиболее активным. В случае индуцированной продукции цитокина при концентрации 10 мкг/мл неомитилан и его фрагменты несколько снижают сверхэкспрессию цитокина, проявляя таким образом иммуномодулирующий эффект. Такая же закономерность прослеживается при стимуляции синтеза ИФН-γ фрагментами неомитилана. В отличие от нативного полисахарида в концентрации 100 мкг/мл, также наблюдается увеличение синтеза

цитокина с уменьшением молекулярной массы. Уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-10 увеличивался под действием неомитилана и его фрагментов, особенно в концентрации 100 мкг/мл, в то время как на индукцию другого противовоспалительного цитокина ИЛ-4 они не оказывали заметного влияния (данные не представлены). Таким образом, показано, что неомитилан, а также его низкомолекулярные фрагменты оказывают влияние на продукцию провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, что позволяет говорить об их иммуностимулирующей активности.

Еще одним важным паттерном иммуностимулирующей активности биологически активных веществ является их влияние на функции фагоцитарных клеток, в частности на активность лизосомальных ферментов перитонеальных макрофагов мыши. Макрофаги представляют собой значительную популяцию клеток в системе защиты хозяина. Они служат основным компонентом неспецифического клеточного иммунного ответа, а также тесно вовлечены в специфический иммунитет. Макрофаги поглощают инфекционные микроорганизмы и переваривают их с помощью лизосомальных ферментов [18].

Используя технику окрашивания лизосом флуорохромами с последующим анализом изображений клеток, мы обнаружили, что неомитилан и его фрагменты (>100 и >10 кДа) на четвертые сутки после внутрибрюшинного введения тестируемых препаратов в дозе 300 мкг/мышь достоверно стимулировали лизосомальную активность перитонеальных макрофагов в экспериментах *in vivo* (рис. 2).

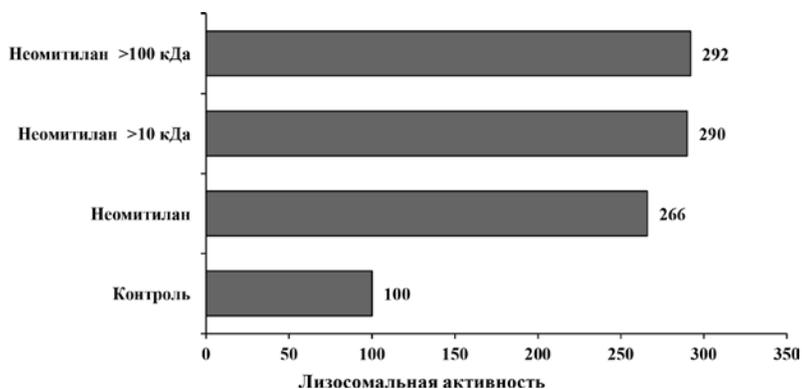


Рис. 2. Влияние неомитилана и его фрагментов на лизосомальную активность перитонеальных макрофагов мыши. Лизосомальную активность рассчитывали, принимая за 100 % активность макрофагов контрольной группы мышей

Показано, что действие неомитилана на лизосомальную активность макрофагов сопровождалось стимуляцией лизосомальной активности более чем в 2,5 раза по сравнению с контрольным уровнем, что выражалось в увеличении количества, размера и кислотности лизосом, тогда как фрагменты неомитилана в той же дозе вызывали увеличение активности примерно в 3 раза по сравнению с активностью макрофагов контрольной группы мышей.

Еще одним объектом нашего исследования стал протеогликан (кораллан), выделенный из мягкого коралла *Pseudopterogorgia americana*, широко распространенного в водах Карибского бассейна. В литературе имеется ограниченная информация о выделении и изучении высокомолекулярных углеводов из кораллов. Слизь – основной секреторный продукт кораллов, как твердых (*Scleractinia*), так и мягких (*Acyonacea*). Она представляет собой пограничный слой между мягкими тканями животного и внешней средой. Биохимический анализ различных видов коралловой слизи показал, что ее состав варьируется и состоит из белка, липидов и полисахаридов в различных соотношениях [7]. Изучение основных физико-химических характеристик кораллана показало, что он является кислым углевод-белковым соединением. Содержание углеводов в его составе достигает 46,7 %,

белка – 15,1 %. Углеводный компонент кораллана представляет собой сульфатированный гликуроногликан.

Кораллан обладает высокой физиологической активностью, в частности способностью стимулировать иммунную систему против различных заболеваний. Достоверно известно, например, что он вызывает торможение роста 6 из 10 изученных злокачественных опухолей (от 52 до 94 %) при внутрибрюшинном и 2 опухолей при пероральном методе введения. Это соединение неэффективно при саркоме-180, но высокоактивно в отношении таких резистентных опухолей, как рак легкого (Льюис LLC) и аденокарцинома толстого кишечника (Акатол).

Кроме противоопухолевой активности кораллан проявляет иммуностимулирующую активность. Он стимулирует иммуногенез животных при псевдотуберкулезной инфекции: 1) усиливает фагоцитарную активность лейкоцитов крови; 2) в 3–4 раза по сравнению с контролем увеличивает количество антителобразующих клеток в селезенке мышей, иммунизированных эритроцитами барана; 3) в 2 раза повышает продолжительность жизни и выживаемость мышей, зараженных смертельной дозой возбудителя псевдотуберкулеза. Таким образом, кораллан может быть использован для стимуляции защитных сил организма при псевдотуберкулезной инфекции. В концентрациях от 10 до 500 мкг/мл *in vitro* он индуцирует продукцию интерферона в лейкоцитах человека. В то же время внутривенное введение кораллана в высоких дозах в силу особенностей его макромолекулярной структуры вызывает у мышей анафилактическую реакцию. Этот эффект исчезает после ультразвуковой и ферментативной обработки кораллана с сохранением его иммуномодулирующих свойств.

Таким образом, получение низкомолекулярных фрагментов как неомитилана, так и кораллана является перспективным направлением для создания препаратов, обладающих высокой биологической активностью и не вызывающих негативных последствий при пероральном введении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лукьянов П.А., Черников О.В., Кобелев С.С., Чикаловец И.В., Молчанова В.И., Ли В. Углеводсвязывающие белки морских беспозвоночных // Биоорг. химия. 2007. Т. 33, № 1. С. 172–181.
2. Молчанова В.И., Чикаловец И.В., Черников О.В., Попов А.М., Кривошапко О.Н., Лукьянов П.А. Сравнительное изучение биологической активности биогликанов из дальневосточной мидии *Crenomytilus grayanus* // ТМЖ. 2012. № 1. С. 47–50.
3. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. 2002. № 1. С. 9–17.
4. Чикаловец И.В., Молчанова В.И., Булгаков А.А., Черников О.В., Петрова И.Ю., Лукьянов П.А. Использование лектинов морских гидробионтов для диагностики ряда социально значимых заболеваний человека // Вестн. ДВО РАН. 2010. № 5. С. 125–130.
5. Чикаловец И.В., Молчанова В.И., Аминин Д.Л., Черников О.В., Пислягин Е.А., Лукьянов П.А. Неомитилан – новый иммуномодулятор из мидии *Crenomytilus grayanus* // ТМЖ. 2009. № 3. С. 32–35.
6. Belogortseva N.I., Molchanova V.I., Kurika A.V., Skobun A.S., Glazkova V.E. Isolation and characterization of new GalNAc/Gal-specific lectin from the sea mussel *Crenomytilus grayanus* // Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol. 1998. Vol. 119. P. 45–50.
7. Brown B., Bythell J. Perspectives on mucus secretion in reef corals // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2005. Vol. 296. P. 291–309.
8. Cheong K.L., Xia L.X., Liu Y. Isolation and Characterization of Polysaccharides from Oysters (*Crassostrea gigas*) with Anti-Tumor Activities Using an Aqueous Two-Phase System // Mar. Drugs. 2017. Vol. 15, N 11. P. 338–349.
9. Chernikov O., Kuzmich A., Chikalovets I., Molchanova V., Hua K.F. Lectin CGL from the sea mussel *Crenomytilus grayanus* induces Burkitt's lymphoma cells death via interaction with surface glycan // Int. J. Biol. Macromol. 2017. Vol. 104. P. 508–514.
10. Chernikov O.V., Molchanova V.I., Chikalovets I.V., Kondrashina A.S., Li W., Lukyanov P.A. Lectins of marine hydrobionts // Biochemistry (Moscow). 2013. Vol. 78, N 7. P. 760–770.
11. Cheung R.C., Wong J.H., Pan W., Chan Y.S., Yin C., Dan X., Ng T.B. Marine lectins and their medicinal applications // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2015. Vol. 99. P. 3755–3773.

12. Chikalovets I.V., Kovalchuk S.N., Litovchenko A.P., Molchanova V.I., Pivkin M.V., Chernikov O.V. A new Gal/GalNAc-specific lectin from the mussel *Mytilus trossulus*: Structure, tissue specificity, antimicrobial and antifungal activity // *Fish Shellfish Immunol.* 2016. Vol. 50. P. 27–33.
13. Chikalovets I.V., Mizgina T.O., Molchanova V.I., Ovcharenko Yu.S., Chernikov O.V. Isolation and characterization of lectin from the scallop *Patinopekten yessoensis* // *Chem. Nat. Comp.* 2017. Vol. 53, N 4. P. 717–721.
14. Chikalovets I.V., Kondrashina A.S., Chernikov O.V., Molchanova V.I., Lukyanov P.A. Isolation and general characteristics of lectin from the mussel *Mytilus trossulus* // *Chem. Nat. Comp.* 2013. Vol. 48, N 6. P. 1058–1061.
15. Chikalovets I.V., Molchanova V.I., Chernikov O.V., Lukyanov P.A. Preparation of neomytilan, a bioglycan from the mussel *Crenomytilus grayanus*, and its immunostimulating activity // *Chem. Nat. Comp.* 2013. Vol. 49, N 5. P. 789–793.
16. Fujii Y., Dohmae N., Takio K., Kawsar S.M., Matsumoto R., Hasan I., Koide Y., Kanaly R.A., Yasumitsu H., Ogawa Y., Sugawara S., Hosono M., Nitta K., Hamako J., Matsui T., Ozeki Y. A lectin from the mussel *Mytilus galloprovincialis* has a highly novel primary structure and induces glycan-mediated cytotoxicity of globotriaosylceramide-expressing lymphoma cells // *J. Biol. Chem.* 2012. Vol. 287, N 53. P. 44772–44783.
17. Gabius H.-J. The history of lectinology // *Antitumor potential and other emerging medicinal properties of natural compounds* / eds E.F. Fang, T.B. Ng. Dordrecht: Springer, 2013. P. 15–20.
18. Jeong S.-Ch., Yang B.-K., Kim G.-N., Jeong H., Wilson M.A., Cho Y., Sundar Rao K., Song Ch.-H. Macrophage-Stimulating Activity of Polysaccharides Extracted from Fruiting Bodies of *Coriolus versicolor* (Turkey Tail Mushroom) // *J. Med. Food.* 2006. Vol. 9, N 2. P. 175–181.
19. Kovalchuk S.N., Chikalovets I.V., Chernikov O.V., Molchanova V.I., Li W., Rasskazov V.A., Lukyanov P.A. cDNA cloning and structural characterization of a lectin from the mussel *Crenomytilus grayanus* with a unique amino acid sequence and antibacterial activity // *Fish Shellfish Immunol.* 2013. Vol. 35. P. 1320–1324.
20. Molchanova V., Chernikov O., Chikalovets I., Lukyanov P. Purification and partial characterization of the lectin from the marine red alga *Tichocarpus crinitus* (Gmel.) Rupr. (Rhodophyta) // *Bot. Mar.* 2010. Vol. 53. P. 69–78.
21. Naeem A., Saleemuddin M., Khan R.H. Glycoprotein targeting and other applications of lectins in biotechnology // *Curr. Protein Pept. Sci.* 2007. Vol. 8, N 3. P. 261–271.
22. Sharon N., Lis H. *Lectins*: 2nd ed. Dordrecht: Springer, 2007. 454 p.
23. Smith V.J., Desbois A.P., Dyrinda E.A. Conventional and unconventional antimicrobials from fish, marine invertebrates and micro-algae // *Mar. Drugs.* 2010. Vol. 8. P. 1213–1262.
24. Vo T.S., Kim S.K. Potential anti-HIV agents from marine resources: A overview // *Mar. Drugs.* 2010. Vol. 8. P. 2871–2892.