TẠP CHÍ KHOA HỌC ĐẠI HỌC KHÁNH HÒA
tapchikhoahoc@ukh.edu.vn

THU NHẬN VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA LECTIN TỪ RONG ĐỎ *HYDROPUNTIA EUCHEUMOIDES*

Đinh Thành Trung

Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang

Tóm tắt: *Lectin từ rong đỏ Hydropuntia eucheumoides được thu nhận qua các bước gồm tách chiết bằng ethanol 20%, kết tủa bằng ethanol nồng độ 80%, tinh sạch bằng kỹ thuật sắc ký trao đổi ion DEAE-Sepharose và sắc ký lọc gel Sephacryl S-200. Trọng lượng phân tử của lectin được xác định vào khoảng 17 kD và ở dạng monomer. Lectin không thể hiện khả năng kháng các chủng vi khuẩn sử dụng trong nghiên cứu ở nồng độ 0,4 mg/mL.*

Từ khóa*: lectin, rong đỏ Hydropuntia eucheumoides.*

1. Mở đầu

Do sự biến đổi liên tục của các tác nhân gây bệnh và ảnh hưởng của các loại bệnh trên cả người và thủy sản, nên việc chẩn đoán nhằm phát hiện sớm hay tìm ra các phương thức góp phần làm tăng hiệu quả điều trị là vấn đề cấp thiết. Một trong những phương pháp đang được quan tâm là sử dụng các phân tử có nguồn gốc thiên nhiên hoặc tái tổ hợp có khả năng nhận diện sinh học. Đây cũng là hướng nghiên cứu của công nghệ sinh học hiện đại trong lĩnh vực y sinh, dược hay thủy sản. Nhờ khả năng nhận diện và liên kết được với nhiều loại carbohydrate khác nhau, lectin đang là phân tử được quan tâm trong nhiều nghiên cứu.

Trong số các lectin, lectin từ rong biển là một trong những phân tử tiềm năng của các nghiên cứu trong lĩnh vực y sinh, dược và thủy sản. Lectin từ rong biển có một số ưu thế về đặc tính lý hóa, cấu trúc so với lectin thu nhận từ thực vật trên cạn hoặc từ động vật như hoạt tính của phần lớn lectin từ rong biển không phụ thuộc vào ion hóa trị 2, sự hiện diện của cầu nối disulphide trong cấu trúc giúp hoạt tính của lectin từ rong biển bền và ổn định trong các điều kiện môi trường khắc nghiệt, hay trọng lượng phân tử thấp, cấu trúc nhỏ đặc biệt cũng là một ưu điểm giúp lectin từ rong biển có khả năng sử dụng như một công cụ chẩn đoán hay dùng làm chất dẫn truyền thuốc. Ngoài đặc điểm cấu trúc, sở hữu nhiều hoạt tính sinh học đã được chứng minh cũng là một trong những ưu điểm của lectin từ rong biển như hoạt tính kháng ung thư, kháng vi sinh vật gây bệnh, kháng virus bao gồm cả virus HIV và HCV trên người, qua đó một lần nữa cho thấy tiềm năng ứng dụng của phân tử này trong lĩnh vực y sinh, dược (Boyd et al. 1966; Singh and Walia 2017).

Cho đến nay, có không dưới 100 công bố về sự hiện diện của lectin ở hơn 800 loài rong khác nhau, tuy nhiên số lượng nghiên cứu này vẫn nhỏ và còn ít so với số lượng các loài rong biển. Và theo nghiên cứu của Ram Sarup Singh và cộng sự (2013) đã chỉ ra rằng các lectin có hoạt tính sinh học tốt được thu nhận ở các loài rong đỏ chiếm ưu thế hơn so với lectin thu nhận từ tảo lam và rong lục (61% ở rong đỏ so với 17% ở tảo lam và 22% ở rong lục) (Singh and Walia 2017). Cũng dựa trên kết quả sàng lọc sự hiện diện của lectin trên 80 loài rong biển tại Việt Nam của tác giả Hung LD và cộng sự năm 2009 và 2012 cũng chỉ ra lectin từ các loài rong đỏ thể hiện hoạt tính ngưng kết hồng cầu cao hơn so với các loài rong thuộc rong nâu hay rong lục (Dinh et al. 2009; Hung et al. 2012).

Việt Nam có đường bờ biển dài trên 3260 Km với hệ sinh vật biển phong phú, trong đó số lượng các loài rong biển lên đến trên 827 loài với hơn 412 loài rong đỏ. Đây là một điều kiện vô cùng thuận lợi về nguồn nguyên liệu cho các nghiên cứu tìm ra những lectin có hoạt tính tốt từ rong biển. Từ kết quả nghiên cứu sự hiện diện của lectin trên 80 loài rong biển tại Việt Nam cho thấy, lectin thu nhận từ loài rong đỏ *Hydropuntia eucheumoides* là một trong những lectin hoạt tính cao (hoạt độ gây ngưng kết hồng cầu thỏ thử nghiệm lên đến 4096 HU) (Dinh et al. 2009; Hung et al. 2012). Do đó, cần tiến hành thu nhận và nghiên cứu các tính chất cơ bản của lectin từ

loài rong đỏ *H.eucheumoides*, từ đó định hướng sử dụng lectin này trong lĩnh vực y sinh, dược hoặc thủy sản tại Việt Nam.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Rong *H.eucheumoides* thu nhận tại vùng biển Ninh Thuận và được định danh bởi phòng Vật liệu hữu cơ từ tài nguyên biển – Viện nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang. Các chủng vi khuẩn bệnh được cung cấp bởi Viện Pasteur Nha Trang. Máu thỏ do Viện Vaccine và Sinh phẩm Y tế Nha Trang cung cấp. Cột và các loại nhựa trao đổi ion DEAE-Sepharose fast flow, nhựa sắc ký lọc gel Sephacryl S-200 của hãng GE Helthcare (Mỹ). Các hóa chất thông thường có nguồn gốc Trung Quốc.

2.2. Phương pháp *thu, bảo quản và xử lý mẫu*

Rong *H.eucheumoides* sau khi thu được rửa bằng nước biển, tiếp đến là nước cất để loại bỏ dị vật như cát hay các sinh vật cộng sinh. Tiếp đó, rong được cho vào các túi nylon có khóa kéo, kí hiệu mẫu và để trong trong các thùng nhựa chứa mẫu có túi đá khô nhằm duy trì nhiệt độ lạnh, bảo đảm mẫu không hư hỏng trong quá trình vận chuyển về phòng thí nghiệm. Mẫu rong được xay nhỏ bằng cối xay trong Nitơ lỏng và sau đó bảo quản ở -20 ^{o}C đến khi sử dụng.

Hình 1. Rong đỏ Hydropuntia eucheumoides.

2.3. Phương pháp *bố trí thí nghiệm*

2.3.1. Khảo sát ảnh hưởng của loại dung môi đến quá trình tách chiết lectin từ rong H.eucheumoides

Chuẩn bị các mẫu bột rong sau khi xay với khối lượng bằng nhau trong các cốc thủy tinh. Cho các dung môi khảo sát vào với tỉ lệ bằng nhau là 1:6 (w//v), quá trình chiết được thực hiện ở nhiệt độ 4 ^{o}C, sau 12 giờ, lọc, ly tâm 6000 vòng/phút trong 15 phút thu dịch chiết lectin. Tiến hành xác định giá trị HĐTS, HĐR của lectin trong các mẫu dịch chiết, so sánh và chọn ra dung môi chiết thích hợp – là dung môi mà ở đó giá trị hoạt độ tổng số (HĐTS) và hoạt độ riêng (HĐR) của lectin trong dịch chiết là cao nhất.

2.3.2. Khảo sát nồng độ ethanol thích hợp để kết tủa lectin từ dịch chiết rong H.eucheumoides

Ethanol được làm lạnh ở nhiệt độ -20 ^{o}C trước khi sử dụng để kết tủa. Mẫu dịch chiết lectin được chuẩn bị bằng cách chiết rong trong dung môi thích hợp sau khảo sát, sau đó lọc, ly tâm loại bỏ cặn. Chia dịch chiết thành các mẫu nhỏ có thể tích bằng nhau, tiếp đó ethanol được cho từ từ vào các mẫu để đạt nồng độ ethanol cuối cùng trong dung dịch là 50, 60, 70 và 80%. Sau 6 giờ, ly tâm 10000 vòng/phút trong 30 phút thu tủa và hòa tan lại các mẫu tủa trong đệm PBS 0,02M, pH 7 với thể tích bằng nhau. Xác định HĐTS và HĐR của các dịch tủa, từ đó so sánh và chọn ra nồng độ ethanol thích hợp để kết tủa – là nồng độ ethanol mà ở đó giá trị HĐR và HĐTS của dịch tủa lectin là cao nhất.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thực nghiệm được tính toán tìm giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và vẽ đồ thị bằng phần mềm Mirosoft Exel 2007 (Microsoft Corporation, US).. Xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 16.0 để đánh giá sự khác biệt giữa các yếu tố (các chữ cái in thường khác nhau thể hiện sự sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hoạt độ riêng ($p < 0,05$) và các chữ cái in hoa khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hoạt độ tổng số ($p < 0,05$))

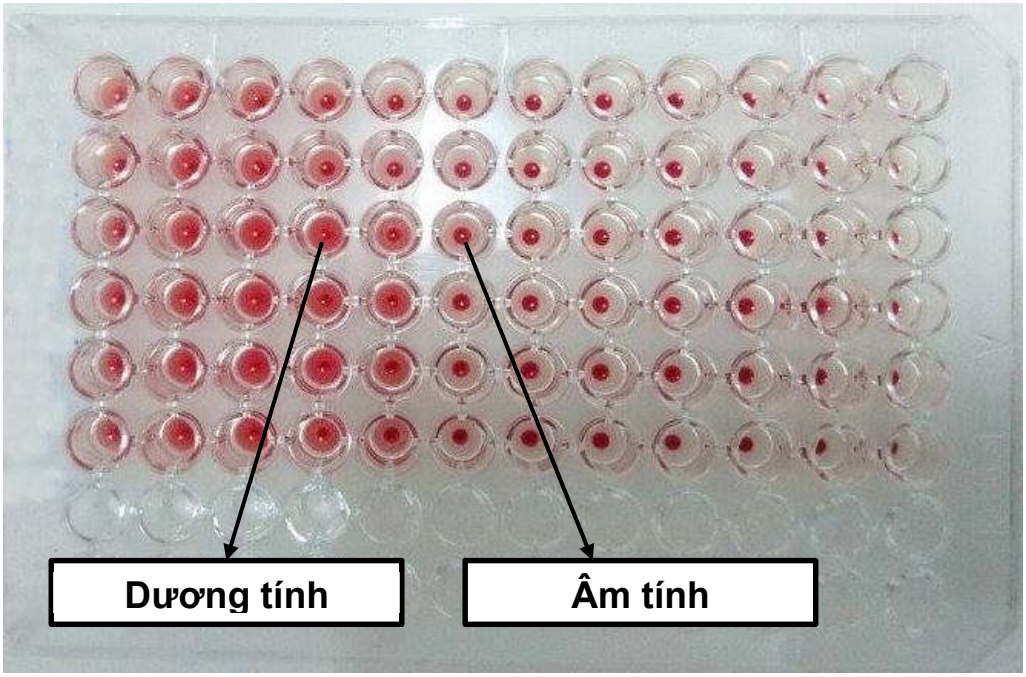
2.5. Chuẩn bị dịch hồng cầu 2% dạng xử lý enzyme trypsine

Máu thỏ được rửa 3 đến 5 lần bằng dung dịch NaCl 150 mM, sau đó bổ sung đệm phosphate 20 mM chứa 150 mM NaCl (pH: 7) để có dịch huyền phù hồng cầu 2% (v/v) dạng tự nhiên. Tiếp theo, dung dịch enzyme nồng độ 0,5% (w/v) được bổ sung, hỗn hợp sau khi được ủ ở 37 ^{o}C trong 60 phút tiếp tục được rửa lại từ 3 đến 5 lần và pha loãng về nồng độ hồng cầu 2% (v/v) như trên. Kết thúc bước này thu được dịch hồng cầu đã qua xử lý enzyme trypsine.

2.6. Thử nghiệm hoạt tính ngưng kết hồng cầu

Hoạt tính ngưng kết hồng cầu được tiến hành trên đĩa 96 giếng đáy chữ V (Hori et al. 1986). Trước tiên, 25 µl nước muối sinh lý được cho vào tất cả các giếng, sau đó 25 µl dịch lectin được cho vào giếng đầu tiên và tiến hành pha loãng liên tiếp đến giếng cuối, tiếp theo thêm 25 µl dịch hồng cầu vào các giếng, lắc nhẹ, giữ ở nhiệt độ phòng và đọc kết quả sau 1 giờ. Kết quả dương tính nếu hồng cầu tạo thành một lớp đồng nhất trong giếng, ngược lại kết quả âm tính nếu hồng cầu lắng xuống tạo thành chấm nhỏ dưới đáy giếng. Hoạt độ lectin là giá trị nghịch đảo giá trị pha loãng lớn nhất mà tại đó hồng

cầu vẫn bị ngưng kết. Thử nghiệm được thực hiện với mẫu kép.



Hình 2. **Kết quả thử nghiệm hoạt tính ngưng kết hồng cầu.**

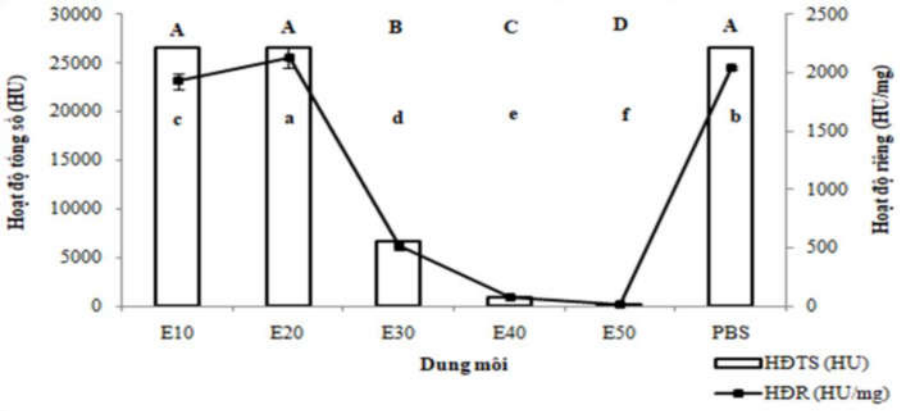
2.7. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn

Hoạt tính kháng khuẩn của lectin được đánh giá theo phương pháp đục lỗ thạch của Bauer (Bauer et al. 1966), có điều chỉnh cho phù hợp với điều kiện của phòng thí nghiệm. Chuẩn bị dịch huyền phù của vi khuẩn đã được nuôi cấy qua 24 giờ với mật độ khoảng 10^8 tế bào/mL. Trải dịch huyền phù vi khuẩn lên môi trường thạch MHA (Muller Hinton Agar) trong đĩa petri. Sử dụng thanh kim loại vô trùng để tạo thành những giếng nhỏ có đường kính khoảng 5 mm trên bề mặt môi trường thạch. Nhỏ 200 µl dịch lectin vào mỗi giếng của đĩa thạch. Hoạt chất lectin sẽ khuếch tán trên môi trường thạch. Ủ đĩa ở 37 ˚C. Sau 24 giờ, kiểm tra sự tạo thành vòng vô khuẩn và đo đường kính vòng vô khuẩn. Khả năng kháng khuẩn mạnh hay yếu tùy thuộc vào đường kính vòng vô khuẩn lớn hay nhỏ.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của dung môi chiết đến quá trình chiết lectin

Sử dụng các dung môi gồm ethanol ở các nồng độ khác nhau 10, 20, 30, 40, 50% (tương ứng E10, E20, E30, E40 và E50) và đệm phosphate 20 mM, pH: 7.0 + 150 mM NaCl (PBS) để khảo sát ảnh hưởng của dung môi chiết đến HĐTS và HĐR của lectin. Kết quả nghiên cứu thể hiện trong hình 3.



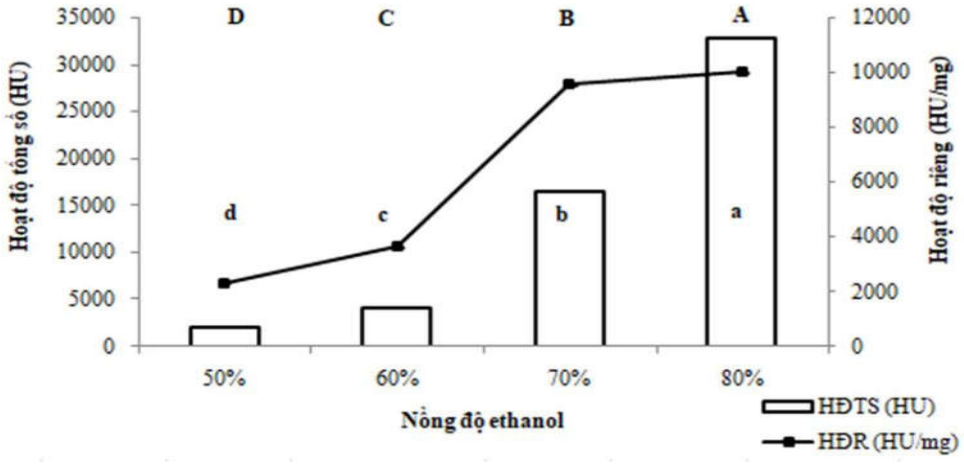
Hình 3. **Ảnh hưởng của dung môi chiết đến hoạt độ tổng số và hoạt độ riêng của lectin từ rong *Hydropuntia eucheumoides*.**

Kết quả hình 3 cho thấy ảnh hưởng của các dung môi khác nhau đến HĐTS và HĐR của lectin trong dịch chiết. Theo kết quả thu được, HĐTS của lectin khi được chiết bằng 3 loại dung môi gồm E10, E20 và đệm PBS là cao nhất và không có sự khác biệt (26624 HU). Tuy nhiên, lectin khi chiết bằng

E20 có HĐR cao hơn so với E10 và PBS (2128 HU/mg so với 1927 và 2041 HUmg) ($p<0,05$). Ở các dịch chiết bằng E30, E40 và E50, do nồng độ ethanol càng tăng thì độ hòa tan của các protein bao gồm cả lectin càng giảm, do đó cả HĐTS và HĐR đều giảm mạnh (lần lượt là 6656, 832, 104 HU và 517, 76, 9 HU/mg). Từ kết quả nghiên cứu trên, ethanol ở nồng độ 20% được chọn làm dung môi thích hợp để chiết lectin từ rong *H.eucheumoides*.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến quá trình kết tủa lectin

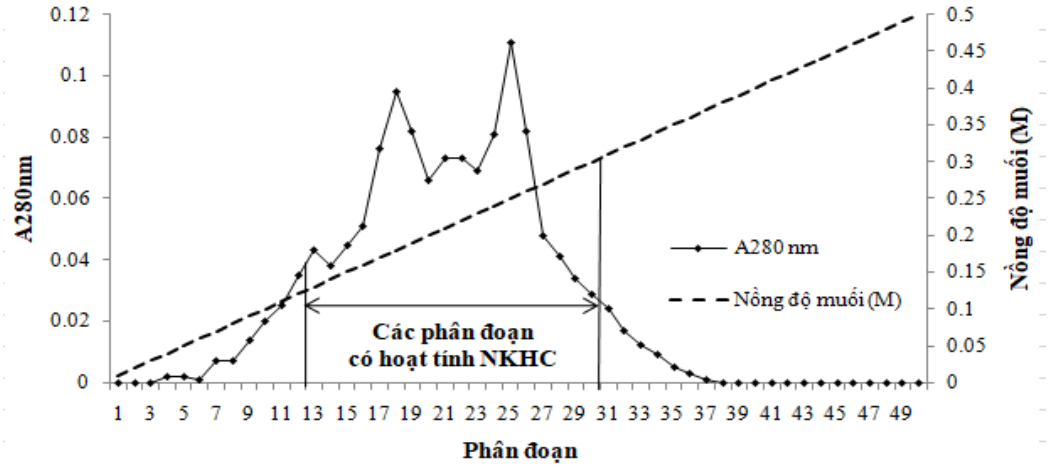
Khảo sát quá trình tủa lectin trong dịch chiết rong *H.eucheumoides* bằng ethanol ở các nồng độ 50 đến 80% theo phương pháp đã trình bày ở mục 2.3.2. Kết quả nghiên cứu được thể hiện trong hình 4.



Hình 4. **Ảnh hưởng của nồng độ Ethanol đến hoạt độ tổng số và hoạt độ riêng dịch tủa lectin từ rong *Hydropuntia eucheumoides.***

Kết quả hình 4 cho thấy, ở nồng độ ethanol là 50% HĐTS cũng như HĐR của dịch tủa thu được là thấp nhất (2048 HU và 2298 HU/mg), do ở nồng độ này chưa đủ để kết tủa lectin. Khi tăng dần nồng độ ethanol lên 60 hay 70% thì hàm lượng các protein bị kết tủa bao gồm cả lectin tăng lên, do đó HĐTS và HĐR đều tăng mạnh (4096 HU và 3624 HU/mg lên 16384 HU và 9544 HU/mg). HĐTS và HĐR của lectin trong đạt giá trị cao nhất ở nồng độ ethanol 80% (32768 HU và 10002 HU/mg), do lượng lectin có trong dịch chiết đã bị kết tủa gần như hoàn toàn ở nồng độ này. Thêm vào đó, việc sử dụng ethanol làm tác nhân kết tủa sẽ giúp rút ngắn thời gian kết tủa cũng như dễ loại bỏ ethanol sau khi kết thúc quá trình này. Do đó, chọn 80% là nồng độ ethanol thích hợp để kết tủa hoàn toàn lectin trong dịch chiết.

3.3. Tinh chế lectin bằng kỹ thuật sắc ký trao đổi ion DEAE-Sepharose



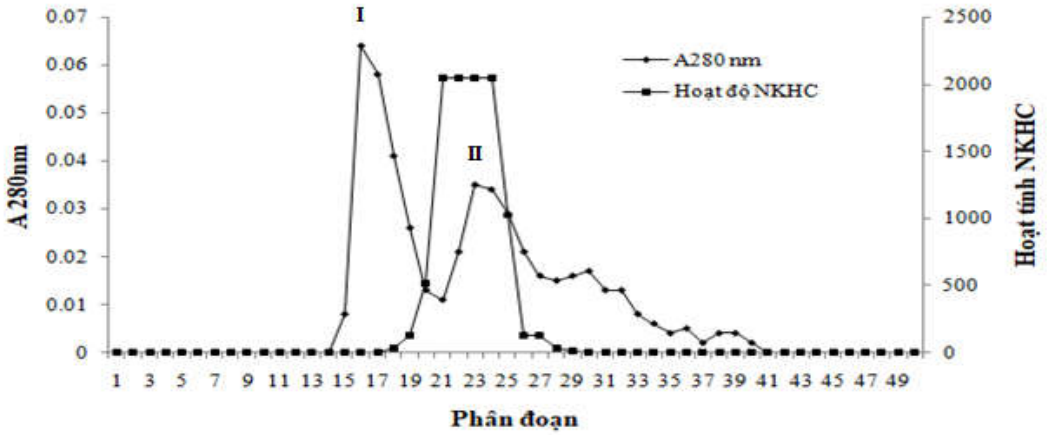
Hình 5. **Đồ thị biểu diễn độ hấp thụ (λ=280nm)và hoạt độ ngưng kết hồng cầu của các phân đoạn trong quá trình sắc ký trao đổi ion DEAE – Sepharose.**

Ở kỹ thuật sắc ký trao đổi ion, các protein liên kết với nhựa dựa trên lực liên kết ion và được rửa giải khỏi cột ở những nồng độ khác nhau. Kết quả sắc ký đồ hình 5 cho thấy, khi thay đổi nồng độ muối trong đệm rửa giải thì các protein được rửa giải ra khỏi cột (thể hiện qua sự thay đổi của giá trị

A_{280}). Hàm lượng protein cao nhất ở nồng độ muối 0,18 và 0,25M. Toàn bộ các protein được rửa giải khỏi cột từ nồng độ muối từ 0,38M đến nồng độ muối cuối cùng khảo sát là 0,5M (giá trị A_{280} bằng 0).

Cũng dựa trên kết quả sắc ký đồ hình 5, khi kiểm tra hoạt tính NKHC của tất cả các phân đoạn cho thấy chỉ có ở các phân đoạn từ 13 đến 31 (tương ứng với nồng độ muối từ 0,13M đến 0,31M) thể hiện kết quả dương tính, nghĩa là lectin đã được rửa giải ra khỏi cột trong các phân đoạn này. Vì vậy, các phân đoạn này được thu nhận để tiến hành các bước tinh sạch tiếp theo.

3.4. Kết quả tính sạch bằng kỹ thuật sắc ký lọc gel Sephacryl S-200

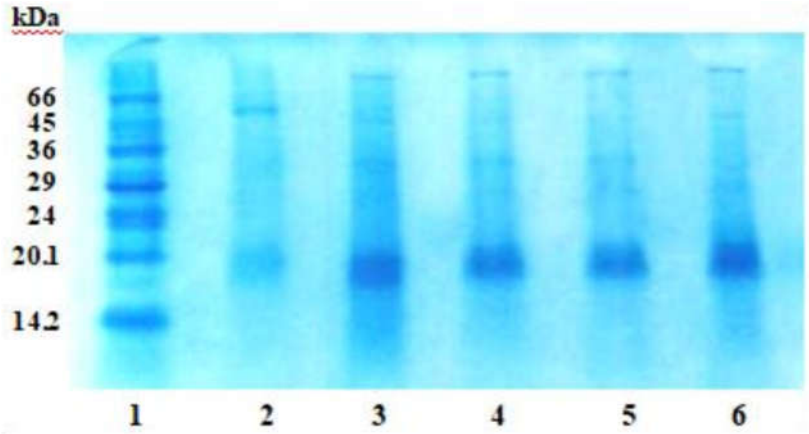


Hình 6. **Đồ thị biểu diễn độ hấp thụ (λ=280nm) và hoạt độ ngưng kết hồng cầu của các phân đoạn trong quá trình sắc ký lọc gel Sephacryl S-200.**

Từ kết quả hình 6 ghi nhận được 2 peak có độ hấp thụ A_{280} cao, như vậy, có thể dự đoán hỗn hợp protein qua sắc ký lọc gel chủ yếu gồm 2 loại protein có trọng lượng phân tử khác nhau. Cũng dựa trên kết quả sắc ký đồ hình 6, khi kiểm tra hoạt tính NKHC của tất cả các phân đoạn thu nhận thì chỉ có ở các phân đoạn thuộc peak II mới thể hiện kết quả dương tính. Từ đó có thể kết luận rằng lectin được rửa giải chủ yếu tập trung ở peak II. Do đó, tiến hành thu các phân đoạn trong peak II, cô đặc bằng màng siêu lọc kích cỡ 10 kDa, sau đó tiến hành kiểm tra độ tinh sạch và xác định trọng lượng phân tử của lectin bằng kỹ thuật điện di SDS-PAGE.

3.5. Xác định trọng lượng phân tử của lectin bằng kỹ thuật điện di SDS-PAGE

Các phân đoạn có hoạt tính sau khi tiến hành kỹ thuật sắc ký lọc gel được sử dụng để tiến hành điện di nhằm xác định độ tinh sạch cũng như xác định trọng lượng phân tử của lectin thu nhận. Kết quả được thể hiện trong hình…



Hình 7. **Kết quả điện di SDS-PAGE.**

Trong đó:

Lane 1: Thang chuẩn Protein

Lane 2: Dịch chiết

Lane 3: Dịch tủa lectin

Lane 4: Dịch chứa lectin sau sắc ký trao đổi ion

Lane 5: Dịch lectin sau sắc ký lọc gel

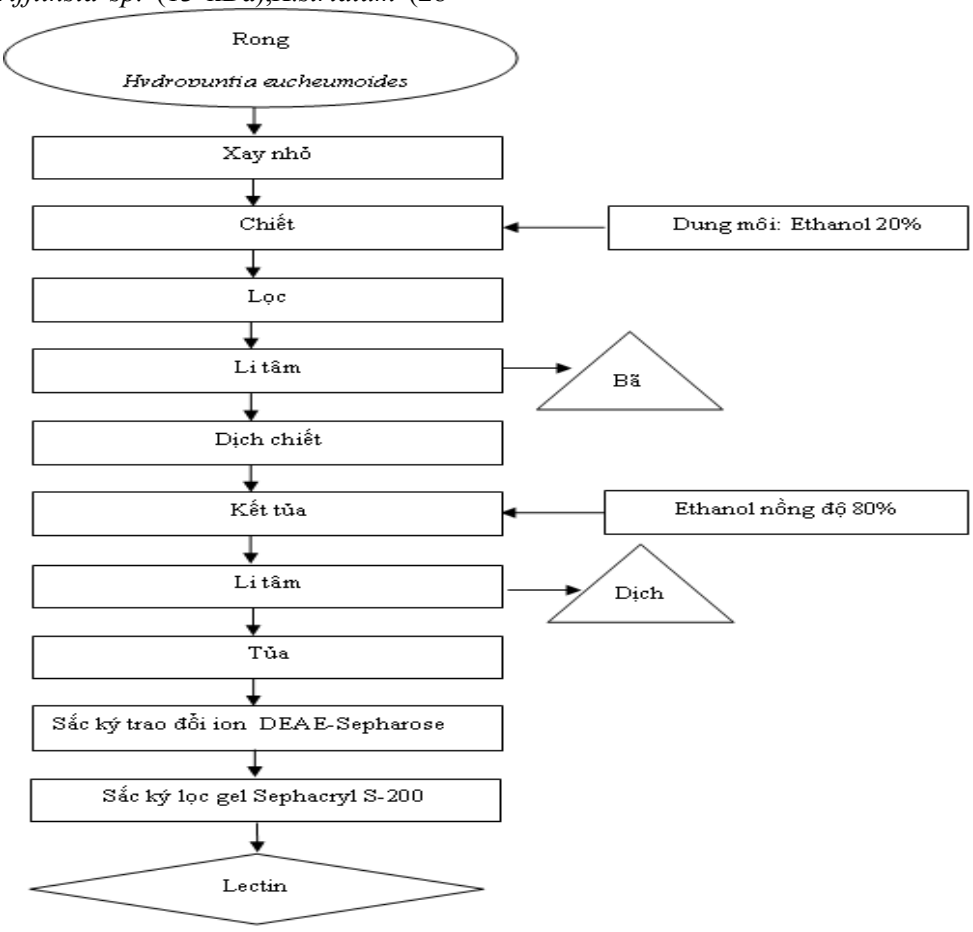
Lane 6: dịch lectin sau sắc ký lọc gel + chất khử 2-mercaptoethanol

Từ kết quả điện di hình 7 cho thấy số lượng các protein đã được loại bỏ một cách đáng kể sau từng bước. Mẫu sau sắc ký lọc gel (lane 5) chỉ còn lại 1 band ở vị trí trọng lượng phân tử khoảng 17 kDa và trùng với band protein này ở lane 3 và lane 4. Như vậy, có thể kết luận đây là band của protein lectin cần thu nhận. Ở lane 6 là dịch lectin sau sắc ký lọc gel nhưng được bổ sung chất khử 2-mercaptoethanol. Kết quả điện di cho thấy ở lane 5 và 6 đều chỉ xuất hiện 1 band duy nhất ở cùng một vị trí (17 kDa). Do đó, có thể kết luận lectin từ rong *H.eucheumoides* có trọng lượng phân tử khoảng 17 kDa và ở dạng monomer.

Trọng lượng phân tử của lectin này tương đồng với nhiều lectin khác từ rong biển và cũng phù hợp với đặc điểm chung của lectin từ rong biển, theo đó trọng lượng phân tử của lectin thu nhận từ phần lớn các loài rong đỏ là tương đối thấp dao động trong khoảng vài chục kDa và cấu tạo dạng monomer như lectin từ rong *Georgiella confluens* (21,5 kDa), *Griffithsia sp.* (13 kDa),*K.striatum* (28 kDa), *S. filiformis* (28 kDa), *Pterocladiella capillacea* (5,8 kDa) (Oliveira et al. 2002; Mori et al. 2005; Souza et al. 2010; Hung et al. 2011; Chaves et al. 2017)… Tuy nhiên, vẫn có một số lectin từ rong đỏ tồn tại ở dạng dimer, trimer và cả tetramer như lectin từ rong *G. tikvahiae* (dimer - 29,7 và 24,9 kDa), *Palmaria palmata* (dimer – 20kDa), *Vidalia obtusiloba* (dimer – 59,6 và 15,2 kDa), *Ptilota filicina* (trimer – 19,3 kDa), *P. plumosa* (trimer – 17,4 kDa), *P. serrata* (trimer – 18,3 kDa), *G. verrucosa* (tetrameric – 12,12,10,5 và 10,5 kDa) (Singh and Walia 2017), tuy nhiên số lượng này là rất ít.

3.6. Quy trình thu nhận lectin từ rong *Hydropuntia eucheumoides*

Từ các kết quả nghiên cứu đạt được, quy trình thu nhận lectin từ rong *H.eucheumoides* được đề xuất như sau



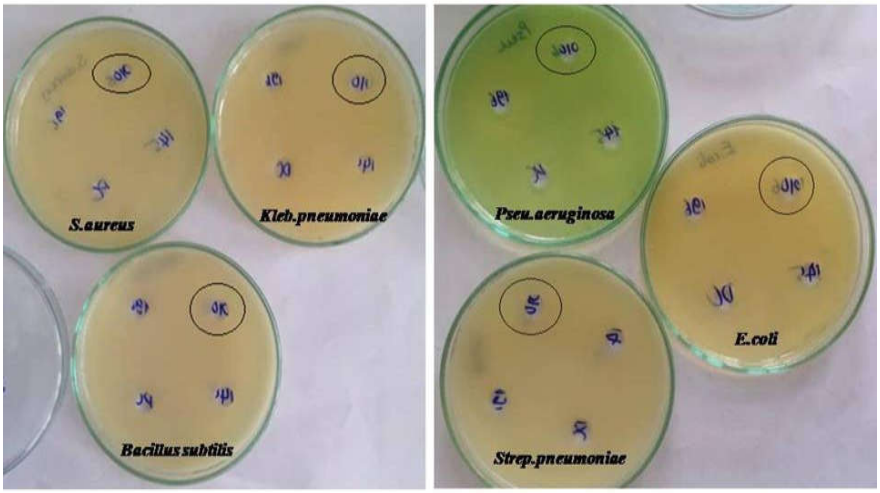
Hình 8. **Quy trình thu nhận lectin từ rong *Hydropuntia eucheumoides.***

3.7. Hoạt tính kháng khuẩn của lectin từ rong *Hydropuntia eucheumoides*

200 µl dịch lectin sau tinh sach có nồng độ 2 mg/mL được sử dụng để test hoạt tính kháng khuẩn theo phương pháp đã được trình bày ở mục 2.7. Kết quả được thể hiện trong bảng 1 và hình 9.

Bảng 1. **Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn của lectin từ rong *Hydropuntia eucheumoides.***

Vi khuẩn	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)
Bacillus cereus	-
Escherichia coli	-
Pseudomonas aeruginosa	-
Staphylococcus aureus	-
Streptococcus pneumoniae	-
Klebsiella pneumoniae	-



Hình 9. **Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩncủa lectin từ rong *Hydropuntia eucheumoides*.**

Như vậy, từ kết quả bảng 1 và hình 9 cho thấy lectin từ rong *H.eucheumoides* không có khả năng kháng các chủng vi khuẩn gây bệnh sử dụng trong nghiên cứu gồm *Staphylococcus areus, Streptococcus pneumoniae, Escherichia coli, Bacillus subtillis, Pseudomonas aeruginosa và Klebsiella pneumoniae* ở nồng độ lectin trong dịch thử khoảng 0,4 mg/mL.

Hoạt tính kháng vi sinh vật gây bệnh là một trong những hoạt tính sinh học đã được chứng minh ở lectin thu nhận từ nhiều loài rong đỏ. Như lectin từ rong *Solieria filiformis* đã được chứng minh có khả năng ức chế các chủng vi khuẩn gây bệnh cho người như *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp*, *Samonella typhi* hay *Pseudomonas aeruginosa*. Khả năng kháng các chủng vi khuẩn này của lectin này được giải thích là do khả năng liên kết được với các gốc đường hiện diện trên bề mặt màng tế bào, các thụ thể của các vi khuẩn đó như glucose, galactose, mannose, ribose, rhamnose, glucosamine, galactosamine. Tuy nhiên, lectin từ rong *H.eucheumoides* lại không phát hiện khả năng kháng các chủng vi khuẩn sử dụng, điều này có thể giải thích là do sự thiếu các gốc đường cho sự nhận diện của lectin trên bề mặt tế bào các chủng vi khuẩn này hoặc do ở nồng độ này chưa đủ để ức chế được sự phát triển của các chủng vi khuẩn (Holanda et al. 2005). Ngoài các chủng gây bệnh trên người, lectin từ rong đỏ ũng đã được chứng minh có khả năng kháng các chủng vi khuẩn gây bệnh trên thủy sản hiện nay như khả năng kháng vi khuẩn *V.parahaemolyticus* của lectin từ loài *Gracilaria fisheri*, hay một số chủng Vibrio khác như *Vibrio pelagius*, *Vibrio neresis* và *Vibrio vulnific* của lectin từ loài *Galaxaura marginata, Eucheuma serra* (Liao et al. 2003; Boonsri et al. 2017).

4. Kết luận

Dung môi thích hợp để tách chiết lectin từ rong đỏ *Hydropuntia eucheumoides* là Ethanol nồng độ 20% và 80% là nồng độ ethanol thích hợp để kết tủa lectin từ dịch chiết. Lectin được tinh sạch sau các bước tiến hành kỹ thuật sắc ký trao đổi ion DEAE-Sepharose và sắc ký lọc gel trên nhựa Sephacryl S-200. Trọng lượng phân tử của lectin đã được xác định vào khoảng 17 kDa và ở dạng monomer bằng kỹ thuật điện di SDS-PAGE. Lectin thu nhận được không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn ở nồng độ 0,4 mg/mL đối với 6 chủng vi khuẩn sử dụng gồm *Staphylococcus areus, Streptococcus pneumoniae, Escherichia coli, Bacillus subtillis, Pseudomonas aeruginosa và Klebsiella pneumoniae.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC & Turck M 1966, 'Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method', *Am J Clin Pathol* vol. 45 (4)**,** pp. 493-496.
2. Boonsri Nantavadee, Rudtanatip Tawut, Withyachumnarnkul Boonsirm & Wongprasert Kanokpan 2017, 'Protein extract from red seaweed *Gracilaria fisheri* prevents acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) infection in shrimp', *J Appl Phycol* vol. 29**,** pp. 1597–1608.
3. Boyd William C., Almodóvar Luis R. & Boyd Lyle G. 1966, 'Some common properties of lectins from marine algae', *Transfusion (Philadelphia),* vol. 6**,** pp. 82-83.
4. Chaves RP, Silva SR da, Neto LG Nascimento, Carneiro RF, Silva AL Coelho da, Sampaio AH, et al. 2017, 'Structural characterization of two isolectins from the marine red alga Solieria filiformis (Kützing) P.W.Gabrielson and their anticancer effect on MCF-7 breast cancer cells', *Int J Biol Macromol,* vol.**,** pp.
5. Dinh HL, Hori & Quang NH 2009, 'Screening and preliminary characterization of hemagglutinins in Vietnamese marine algae', *J Appl Phycol,* vol. 21**,** pp. 89-97.
6. Holanda ML, Melo VMM, Silva LMCM, Amorim RCN, Pereira MG & Benevides NMB 2005, 'Differential activity of a lectin from *Solieria filiformis* against human pathogenic bacteria', *Braz J Med Biol Res,* vol. 38**,** pp. 1769-1773.
7. Hori K, Miyazawa K & Ito K 1986, 'Isolation and Characterization of Glycoconjugate-specific Isoagglutinins from a Marine Green Alga Boodlea coacta (Dickie) Murray et De Toni', *Botanica Marina,* vol. 29**,** pp. 323-338.
8. Hung LD, Sato Y & Hori K 2011, 'High-mannose N-glycan-specific lectin from the red alga *Kappaphycus striatum* (Carrageenophyte)', *Phytochemistry,* vol. 72**,** pp. 855–861.
9. Hung Le Dinh, Ly Bui Minh, Trang Vo Thi Dieu, Ngoc Ngo Thi Duy, Hoa Le Thi & Trinh Phan Thi Hoai 2012, 'A new screening for hemagglutinins from Vietnamese marine macroalgae', *J Appl Phycol,* vol. 24**,** pp. 227-235.
10. Liao WR, Lin JY, Shieh WY, Jeng WL & Huang R 2003, 'Antibiotic activity of lectins from marine algae against marine vibrios', *J Ind Microbiol Biotechnol,* vol. 30**,** pp. 433-439.
11. Mori T, O'Keefe BR, Sowder RC, Bringans S, Gardella R, Berg S, et al. 2005, 'Isolation and characterization of griffithsin, a novel HIVinactivating protein, from the red alga *Griffithsia spp*', *J Biol Chem,* vol. 280**,** pp. 9345–9353.
12. Nguyen Tu Van, Le Nhu Hau, Lin Showe-Mei, Steen Frederique & Clerck Olivier De 2013, 'Checklist of the marine macroalgae of Vietnam', *Botanica Marina,* vol. 56**,** pp. 207-227.
13. Oliveira SRM, Nascimento AE, Lima MEP, Leite YFMM & Benevides NMB 2002, 'Purification and characterisation of a lectin from the red marine alga Pterocladiella capillacea (SG Gmel) Santel & Hommers', *Rev Brasil Bot,* vol. 25**,** pp. 397–403.
14. Singh Ram Sarup & Walia Amandeep Kaur 2017, 'Lectins from red algae and their biomedical potential', *J Appl Phycol,* vol.**,** pp.
15. Souza BWS, Andrade FK, Teixeira DIA, Mansilla A & Freitas ALP 2010, 'Haemagglutinin of the Antartic seaweed Georgiella confluens (Reinsch) Kylin: isolation and partial characterization', *Polar Biol,* vol. 33**,** pp. 1311–1318.

ISOLATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF LECTIN FROM RED SEAWEED *HYDROPUNTIA EUCHEUMOIDES*

Đinh Thanh Trung

Nha Trang Institue of Technology Research and Application

Abstract: *Lectin from the red marine algae Hydropuntia eucheumoides was purified by a procedure, including extraction with ethanol 20%, pricipatation with ethanol 80%, ion-exchange using DEAE-Sepharose and gel filtration using Sephacryl S-200 chromatography. The lectin had a estimated molecular mass of 17 kDa, and existed in monomeric form. The lectin exhibited non bactericidal activity at concentration of 0,4 mg/mL.*

Keywords*: lectin, the red algae Hydropuntia eucheumoides.*