



红藻凝集素 G 研究进展

李兰¹, 郑其升^{1*}, 侯继波^{1,2*}

¹江苏省农业科学院国家兽用生物制品工程技术研究中心, 江苏 南京 210014

²江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏 扬州 225009

摘要: 来源于海洋红藻的凝集素 G 已被证实对多种囊膜病毒都有抗病毒活性, 可与囊膜病毒表面糖基结合而阻断病毒的入侵。以病毒入侵为作用靶点的抗病毒药物, 不仅可以阻断病毒的自由传播途径, 还可以阻断细胞间传播途径, 红藻凝集素 G 还具有可溶性好、易表达、稳定性强、免疫原性低、安全性好等优点, 所以红藻凝集素 G 作为一类新型抗病毒药物越来越受到科学家的青睐。

关键词: 凝集素, 囊膜病毒糖蛋白, 抗病毒, 安全性

红藻凝集素 G 最初是由美国国家癌症研究院 (National Cancer Institute, NCI) 于 2005 年从海洋红藻 (*Griffithsia* sp.) 中分离到的一种藻类凝集素^[1], 是目前报道的最有效的抗人体免疫缺陷病毒 (HIV) 药物, 可在皮摩尔浓度范围内抑制 HIV 对靶细胞的感染, 科学家们正在将其开发成一种抗 HIV 药物。另外其对猪繁殖与呼吸综合征病毒 (PRRSV)^[2]、严重急性呼吸窘迫综合征冠状病毒 (SARS-CoV)、丙型肝炎病毒 (HCV)^[3-4]、中东呼吸综合征冠状病毒 (MERS-CoV)^[5]、日本脑炎病毒 (JEV)^[6] 等囊膜病毒也具有较强的抗病毒作用, 笔者最新发现红藻凝集素 G 对猪流行性腹泻病毒 (PEDV) 也具有抑制作用, 本文对红藻凝集素 G 的

结构、稳定性、抗病毒作用、药代动力学参数及安全性等方面进行了阐述, 以期为其进一步开发利用提供参考。

1 结构及稳定性

红藻凝集素 G 在天然状态下以结构域互换的同源二聚体存在^[7] (图 1-A), 其中第 15–19 位氨基酸 (Phe15-Ser16-Gly17-Leu18-Ser19) 编码铰链区, 负责 2 个亚基之间的连接, 当于 16 与 17 位之间插入 Gly-Ser 两个氨基酸时则不能形成二聚体, 只能以单体的形式存在^[8]。圆二色谱分析表明红藻凝集素 G 的主要二级结构是 β -折叠片 (表 1)^[2],

基金项目: 国家自然科学基金(31772701); 江苏省农业科技自主创新资金[CX(18)3011]

*通信作者。Tel/Fax: +86-25-84392008; E-mail: 侯继波, houjibocv@163.com, 郑其升, immun_tech@163.com

收稿日期: 2018-10-30; 修回日期: 2019-01-17; 网络出版日期: 2019-03-13



图 1. 红藻凝集素 G 结构模式图^[7,9]
 Figure 1. The structure of griffithsin^[7,9].

在 220.5 nm 处有一正峰, 在 199.5 nm 处有一负峰 (图 2), 与先前的报导是一致的^[7,9]。红藻凝集素 G 任一亚基均由 3 个重复单位组成, 包括 4 股反向平行的 β -折叠片, 其中 1 个亚基的 2 股 β -折叠片与另外 1 个亚基的 10 股 β -折叠片进行连接, 反之亦然^[7]。

表 1. 圆二色谱法鉴定重组蛋白红藻凝集素 G 的二级结构组成

Table 1. Secondary structure composition of recombinant griffithsin determined from its CD spectrum

Sample	α -helix/%	β -sheet/%	β -turn/%	Random coil/%
Griffithsin	23.1	51.1	21.6	4.3

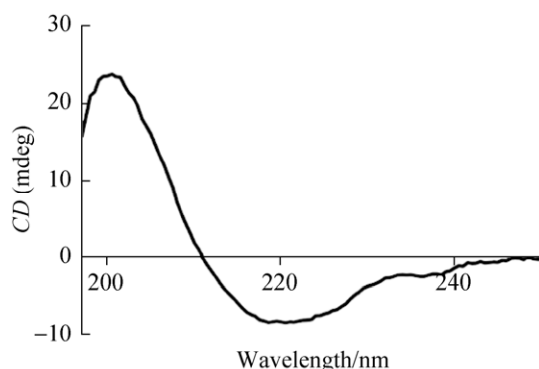


图 2. 重组蛋白红藻凝集素 G 的圆二色谱图^[2]
 Figure 2. CD spectrum of recombinant griffithsin^[2].

单体红藻凝集素 G 分子量为 12.7 kD, 由 121 个氨基酸残基组成, 无半胱氨酸, 第 31 位为分子量 151.05 Da 的未知氨基酸, 由丙氨酸代替时其抗病毒活性不受影响^[1]。氨基酸序列分析发现其单体包含 3 个重复单位 (图 1-B), 于 8-12、40-44 和 86-90 位存在着高度保守的氨基酸序列 Gly-Gly-Ser-Gly-Gly, 起着连接的作用。第 30、70 和 102 位氨基酸均为天冬氨酸, 为 3 个糖基结合位点。红藻凝集素 G 具有极好的稳定性, 在有机溶剂、强酸、高温、反复冻融等条件下仍保持活性^[10], 另外研究人员还研究了红藻凝集素 G 对 9 种蛋白酶的稳定性, 结果显示对其中 8 种是耐受的, 仅对一种表现出敏感性^[11]。

2 抗病毒作用

红藻凝集素 G 对多种囊膜病毒都表现出了较强的抑制作用。笔者发现红藻凝集素 G 对 PRRSV 和 PEDV 均具有较强的抗病毒活性, 通过阻断病毒吸附而发挥作用^[2]; 2005 年, Mori 等^[1]首次研究发现红藻凝集素 G 可以降低 HIV 对 CEM-SS 细胞的感染, 随后大量研究表明红藻凝集素 G 在皮摩尔浓度范围内即可发挥强烈的抗 HIV-1 作用,

红藻凝集素 G 通过与 HIV-1 表面囊膜糖蛋白 gp120 的结合, 进而影响病毒与受体 CD4 及共受体 CCR5 和 CXCR4 的相互作用, 从而阻断病毒入侵靶细胞的过程^[12]。红藻凝集素 G 既可阻断 HIV 胞外自由扩散途径, 又可阻断细胞间传播途径^[13], 这种特性使其优于其他大多数抗病毒药物; 红藻凝集素 G 还能够抑制严重急性呼吸窘迫综合征冠状病毒(SARS-CoV)对 Vero 细胞的感染, 这种抑制作用与表面糖蛋白 S 有关, 但与 HIV 作用不同的是, 红藻凝集素 G 与 S 蛋白结合后不会影响病毒识别受体^[7], 利用小鼠模型评价红藻凝集素 G 对 SARS-CoV 感染的效果, 结果表明接受红藻凝集素 G 治疗的小鼠体重没有减轻, 存活率为 100%, 而没有接受治疗的小鼠体重下降了 25%, 存活率仅为 30%^[14]; 研究还发现红藻凝集素 G 对单纯疱疹病毒(HSV-2)有抗病毒效果, 主要通过阻断 HSV-2 细胞间传播而发挥作用, 对病毒入侵几乎没有影响^[15]; 另外红藻凝集素 G 对丙型肝炎病毒(HCV)^[3-4]、中东呼吸综合症冠状病毒(MERS-CoV)^[5]、日本脑炎病毒(JEV)^[6]等囊膜病毒也表现出不同程度的抑制作用。特别的, 红藻凝集素 G 对非囊膜病毒人乳头瘤病毒(HPV)^[16-17]也具有抑制作用, 通过与 HPV 受体整合素 $\alpha 6$ 的结合, 进而影响 HPV 的内化阶段, 但对病毒吸附没有影响。综上所述, 现有研究结果大多显示红藻凝集素 G 通过与囊膜病毒表面的糖基结合, 进而发挥其抗病毒作用。

作为一种高甘露糖型凝集素, 红藻凝集素 G 对囊膜病毒表现出不同程度的抗病毒活性, 其中对 HIV 的抑制作用是最强的。造成这种差异的原因尚不清楚, 笔者推测可能与囊膜病毒表面的糖蛋白有关, 如糖基组成结构和糖基化程度、囊膜病毒表面纤突数量。对于 HIV, 其表面糖蛋白

gp120 是自然界中糖基化程度最高的糖蛋白之一, 约占其分子量的 50%左右^[18]; 另外每个病毒粒子平均只有 14 个纤突(而对于 A 型流感病毒多达 450 个), 仅 4 个纤突就可介导病毒的入侵^[19], 由此我们可以推断, 为阻断 1 个 HIV 病毒粒子感染靶细胞, 红藻凝集素 G 仅需对抗 4 个纤突即可, 这或许可以解释为什么红藻凝集素 G 对 HIV 作用较其他囊膜病毒强。

3 重组表达

利用基因工程技术表达重组红藻凝集素 G, 为其研究提供稳定的物质基础是非常必要的。因此, 研究人员先后尝试了多种表达系统(表 2), 以期获得表达量高、易纯化、易储存、安全性好的重组红藻凝集素 G。研究人员首先采用 pET 28a (+) 表达载体在 *E. coli* BL21(DE3)中进行表达, 利用 IPTG 进行诱导表达时, 大部分红藻凝集素 G 在包涵体中以不可溶的形式存在, 为使红藻凝集素 G 获得可溶性表达, 研究人员更换培养基进行自诱导表达, 其可溶性大大提高, 表达量也提高了 45 倍^[20]; 笔者采用 pET 32a (+)表达载体在经研究团队改造的 *E. coli* BL21(DE3)中利用 IPTG 进行诱导表达时, 获得了可溶性表达, 表达量可达 88 mg/L; 利用烟草花叶病毒(TMV)载体在烟草中进行表达也有报道^[13,21-22], 值得一提的是 Fuqua 等^[21]利用红藻凝集素 G 极好的热稳定性对其实现了初步分离, 在 50–80 °C 条件下, 除 TMV 外壳蛋白外, 绝大部分杂蛋白因变性而沉淀出来, 通过离心即可得到相对较纯的红藻凝集素 G; 还有研究人员利用农杆菌转化法使红藻凝集素 G 基因整合到烟草基因组中, 实现了红藻凝集素 G 的稳定表达^[23]; 利用叶绿体表达系统在烟草中也成功表达了红藻

表 2. 重组红藻凝集素 G 的表达

Table 2. The expression of recombinant griffithsin

Expression system	Yield	Recovery after purification	Ref.
<i>E. coli</i> BL21(DE3)-shake flasks	12 mg/L		[20]
<i>E. coli</i> BL21(DE3)-fermenter	819 mg/L	542 mg/L	[20]
Tobacco leaves (transient expression)	1 g/kg leaf	300 mg/kg leaf	[21]
Tobacco leaves (stable expression)	400 mg/kg leaf	287 mg/kg leaf	[23]
tobacco chloroplasts		287 mg/kg leaf	[24]
Rice seeds (<i>oryza sativa</i> endosperm)	301 mg/kg dry seed	223 mg/kg	[25]

凝集素 G^[24], 该研究还显示收获的转基因烟草干燥后于室温放置长达 10 个月, 红藻凝集素 G 仍稳定存在, 且其抗病毒活性不受影响; 另外, 水稻胚乳作为公认的表达药用重组蛋白的理想工具, Vamvaka 等^[25]尝试了利用水稻胚乳表达系统生产红藻凝集素 G, 以期获得易储存、安全性更好的红藻凝集素 G。

4 药代动力学

Barton 研究团队对红藻凝集素 G 的药代动力学进行了较为深入的研究。分别采用静脉注射、皮下注射和口服途径给予大鼠红藻凝集素 G, 皮下给药途径可被机体吸收入血液, 血药浓度于给药后 4 h 达到峰值, 直到 96 h 仍能检测

到红藻凝集素 G 的存在, 同时在肾脏、肝脏和脾脏也能检测到红藻凝集素 G 的分布; 静脉给药途径没有吸收过程, 迅速进入血液, 其清除速率也较皮下给药快, 具体见表 3; 口服给药途径不能被机体吸收进入血液, 但在粪便中可以检测到红藻凝集素 G 的存在^[26]。此外该研究团队还证实, 给予大鼠红藻凝集素 G 后, 采集血液, 分离血清, 体外试验表明该血清具有中和病毒的能力^[27]。

5 安全性

红藻凝集素 G 作为一种极具潜力的抗病毒药物, 其安全性也备受关注, 研究人员对其安全性进行了广泛的研究。

表 3. 全身给药 48 h 内红藻凝集素 G 的药代动力学参数^[26]Table 3. Pharmacokinetic parameters of griffithsin within 48 h of systemic administration^[26]

Parameter	Unit	Intravenous/(mg/kg)		Subcutaneous/(mg/kg)	
		10	20	10	20
Absorption half life	h	0.5±0.1	0.5±0.2	1.3±0.3	1.6±0.4
Distribution half life	h	1.7±0.3	2.1±0.7	2.1±0.9	2.8±1.2
Elimination half life	h	10.7±4.6	17.5±6.1	13.8±6.8	6.6±1.9
AUC	(mg·h)/L	105.7±16.9	203.6±27.6	45.6±9.9	183.2±45.3
VD	L	0.4±0.1	0.6±0.2	1.2±0.6	0.2±0.1
Clearance	L/h	0.03±0.01	0.02±0.01	0.06±0.01	0.02±0.01
C _{max}	μg/mL	81.8±25.7	176.0±26.7	6.6±0.6	19.7±2.4

表 4. 红藻凝集素 G 对大鼠血液指标的影响^[28]
Table 4. Effect of griffithsin on a mouse hematological profile

Cell type	Parameter	Unit	14 d		21 d	
			PBS	Griffithsin	PBS	Griffithsin
Leucocytes	WBC	k/ μ L	7.9 \pm 1.5	7.2 \pm 0.5	8.3 \pm 2.4	8.5 \pm 1.6
	NE	k/ μ L	1.7 \pm 0.6	2.7 \pm 0.2	2.1 \pm 1.3	2.9 \pm 1.0
	LY	k/ μ L	5.4 \pm 0.7	3.6 \pm 0.4	5.0 \pm 0.6	4.3 \pm 0.4
	MO	k/ μ L	0.6 \pm 0.1	0.6 \pm 0.1	0.9 \pm 0.2	1.0 \pm 0.5
	EO	k/ μ L	0.2 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	0.2 \pm 0.3	0.3 \pm 0.1
	BA	k/ μ L	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.0
Erythrocytes	RBC	m/ μ L	9.4 \pm 0.5	9.1 \pm 0.7	9.8 \pm 1.1	10.1 \pm 2.3
	Hb	g/dL	14.2 \pm 1.0	13.2 \pm 1.1	15.0 \pm 0.8	15.1 \pm 4.0
	HCT	%	57.9 \pm 5.3	56.2 \pm 5.5	59.4 \pm 6.2	60.1 \pm 14.9
	MCV	fL	61.4 \pm 2.6	61.7 \pm 1.2	60.6 \pm 3.4	59.3 \pm 1.5
	MCH	pg	15.1 \pm 0.4	14.5 \pm 0.6	15.3 \pm 0.9	14.8 \pm 0.7
	MCHC	g/dL	24.5 \pm 0.6	23.5 \pm 1.0	25.3 \pm 1.7	25.0 \pm 0.6
	RDW	%	17.3 \pm 0.9	18.2 \pm 0.5	18.0 \pm 0.4	18.5 \pm 0.4
Thrombocytes	PLT	k/ μ L	1571 \pm 100	1397 \pm 302	850 \pm 43	949 \pm 211
	MPV	fL	3.6 \pm 0.1	3.7 \pm 0.3	3.6 \pm 0.2	3.8 \pm 0.2

首先, 红藻凝集素 G 作为一种凝集素, 血凝性是其安全性评价的重要指标, 2006 年, 人 SP-A 作为抗病毒药物进入 I 期临床试验, 后来研究证明 SP-A 能够干扰人的凝血系统, 临床试验被迫停止^[29], 所以检测红藻凝集素 G 对红细胞的凝集性非常重要, 可喜的是红藻凝集素 G 仅能够凝集豚鼠红细胞, 对人、绵羊、鸡、猪和小鼠红细胞均不会产生凝集^[27]。其次, 还有研究详细检测了红藻凝集素 G 对血液指标及血液生化指标的影响, 结果显示红藻凝集素 G 对白细胞、红细胞和血小板等相关指标基本没有影响, 具体见表 4^[28], 另外对白蛋白、谷丙转氨酶、淀粉酶、血糖、血尿素氮、钙、肌酐、球蛋白、磷和总胆红素等血液生化指标也基本没有影响, 但可轻微上调碱性磷酸酶和胆固醇的含量。第三, 当小鼠给予 10 mg/kg 的红藻凝集素 G 时, 不会引起小鼠的死亡, 同时对其行为特征、体重没有影响, 另外对心、肝、肺和肾等脏器重量也没有影响, 可引起脾脏肿大, 但 2 d

后, 脏器比恢复至正常, 病理学观察一切正常^[28]。第四, 红藻凝集素 G 作为一种异源蛋白质, 其对免疫系统的影响是一个极其重要的考察因素, 初步研究表明红藻凝集素 G 表现为弱免疫原性, 在血清中检测不到抗体的存在^[27], 虽然可与 PBMC 结合, 但不会引起 PBMC 的活化或增殖^[28], 另外对细胞因子的影响也可忽略不计^[30]。

6 红藻凝集素 G 在兽医领域应用展望

随着对凝集素结构与生物功能的研究, 人类已经意识到凝集素的重要价值, 近几十年来, 关于凝集素的研究取得了重大进展, 凝集素家庭成员不断增加, 并且其功能也从最初的凝集血红细胞, 发展到现在许多领域。红藻凝集素 G 作为一种来源于海洋红藻的凝集素, 利用其识别并结合糖基的高度特异性, 可以将其作为生物工具应用

到不同的领域, 如分离纯化、治疗及预防等。红藻凝集素 G 在人医领域研究较多, 而在兽医领域未见其他相关报道。

在分离纯化方面, 笔者进行了初步的探索^[31], 笔者基于红藻凝集素 G 建立了一种基于 GEM (革兰氏阳性增强基质, Gram-positive enhancer matrix, GEM) 颗粒表面展示技术的 PRRSV 疫苗病毒纯化方法, 其中具有锚定作用的接头蛋白是实现病毒纯化的关键, 该接头蛋白由锚定结构域与红藻凝集素 G 结构域组成, 首先凝集素结构域与 PRRSV 进行特异性结合, 然后加入 GEM 颗粒, 锚定结构域与 GEM 颗粒进行特异性结合, 通过一步低速离心将 PRRS 病毒粒子抓取出来, 并富集于 GEM 颗粒表面, 从而实现病毒的浓缩纯化^[31], 大量研究证明红藻凝集素 G 的微生物结合谱非常广泛, 可以与多种囊膜病毒结合, 提示笔者建立的病毒纯化方法具有广泛的应用, 理论上不仅可以纯化 PRRSV, 还可以纯化所有可以与红藻凝集素 G 结合的病毒。

以病毒入侵作为作用靶点的抗病毒药物有其独特的优势, 不仅可以阻断健康细胞的感染, 还能阻断感染细胞向健康细胞传播病毒的途径, 所以凝集素在人医领域已被列为抗 HIV 的潜在药物。目前, 红藻凝集素 G 被认为是最有效的抗 HIV 药物之一, 通过与 HIV 表面糖蛋白相互作用来阻断病毒进入, 皮摩尔浓度范围即可发挥较强的抗病毒活性, 为此, 笔者探索了红藻凝集素 G 对猪的两种重要传染病的抑制作用, 体外研究结果表明红藻凝集素 G 对 PRRSV 和 PEDV 具有较强的抗病毒作用, 可以尝试将红藻凝集素 G 在甘薯中进行表达, 甘薯作为一种食物来源, 饲喂患病动物, 治疗由病毒引起的传染性疾病。

参考文献

- [1] Mori T, O'Keefe BR, Sowder II RC, Bringans S, Gardella R, Berg S, Cochran P, Turpin JA, Buckheit Jr RW, McMahon JB, Boyd MR. Isolation and characterization of griffithsin, a novel HIV-inactivating protein, from the red alga *Griffithsia* sp.. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(10): 9345–9353.
- [2] Li L, Tian XJ, Chen J, Li PC, Zheng QS, Hou JB. Griffithsin inhibits porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection *in vitro*. *Archives of Virology*, 2018, 163(12): 3317–3325.
- [3] Meuleman P, Albecka A, Belouzard S, Vercauteren K, Verhoye L, Wychowski C, Leroux-Roels G, Palmer KE, Dubuisson J. Griffithsin has antiviral activity against hepatitis C virus. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011, 55(11): 5159–5167.
- [4] Takebe Y, Saucedo CJ, Lund G, Uenishi R, Hase S, Tsuchiura T, Kneteman N, Ramessar K, Tyrrell DLJ, Shirakura M, Wakita T, McMahon JB, O'Keefe BR. Antiviral lectins from red and blue-green algae show potent *in vitro* and *in vivo* activity against hepatitis C virus. *PLoS One*, 2013, 8(5): e64449.
- [5] Millet JK, Séron K, Labitt RN, Danneels A, Palmer KE, Whittaker GR, Dubuisson J, Belouzard S. Middle east respiratory syndrome coronavirus infection is inhibited by griffithsin. *Antiviral Research*, 2016, 133: 1–8.
- [6] Ishag HZA, Li C, Huang L, Sun MX, Wang FJ, Ni B, Malik T, Chen PY, Mao X. Griffithsin inhibits Japanese encephalitis virus infection *in vitro* and *in vivo*. *Archives of Virology*, 2013, 158(2): 349–358.
- [7] Ziółkowska NE, O'Keefe BR, Mori T, Zhu C, Giomarelli B, Vojdani F, Palmer KE, McMahon JB, Wlodawer A. Domain-swapped structure of the potent antiviral protein griffithsin and its mode of carbohydrate binding. *Structure*, 2006, 14(7): 1127–1135.
- [8] Moulai T, Shenoy SR, Giomarelli B, Thomas C, McMahon JB, Dauter Z, O'Keefe BR, Wlodawer A. Monomerization of the viral entry inhibitor griffithsin yields insights into the relationship between multivalent binding to high mannose oligosaccharides and antiviral activity. *Structure*, 2010, 18(9): 1104–1115.
- [9] Micewicz ED, Cole AL, Jung CL, Luong H, Phillips ML, Pratikhya P, Sharma S, Waring AJ, Cole AM, Ruchala P.

- Grifonin-1: A small HIV-1 entry inhibitor derived from the algal lectin, Griffithsin. *PLoS One*, 2010, 5(12): e14360.
- [10] Lusvardi S, Bewley CA. Griffithsin: an antiviral lectin with outstanding therapeutic potential. *Viruses*, 2016, 8(10): 296.
- [11] Moncla BJ, Pryke K, Rohan LC, Graebing PW. Degradation of naturally occurring and engineered antimicrobial peptides by proteases. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2011, 2(6): 404–408.
- [12] Alexandre KB, Gray ES, Pantophlet R, Moore PL, McMahon JB, Chakauya E, O’Keefe BR, Chikwamba R, Morris L. Binding of the mannose-specific lectin, griffithsin, to HIV-1 gp120 exposes the CD4-binding site. *Journal of Virology*, 2011, 85(17): 9039–9050.
- [13] O’Keefe BR, Vojdani F, Buffa V, Shattock RJ, Montefiori DC, Bakke J, Mirsalis J, D’Andrea AL, Hume SD, Bratcher B, Saucedo CJ, McMahon JB, Pogue GP, Palmer KE. Scalable manufacture of HIV-1 entry inhibitor griffithsin and validation of its safety and efficacy as a topical microbicide component. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(15): 6099–6104.
- [14] O’Keefe BR, Giomarelli B, Barnard DL, Shenoy SR, Chan PKS, McMahon JB, Palmer KE, Barnett BW, Meyerholz DK, Wohlford-Lenane CL, McCray Jr PB. Broad-spectrum *in vitro* activity and *in vivo* efficacy of the antiviral protein griffithsin against emerging viruses of the family *Coronaviridae*. *Journal of Virology*, 2010, 84(5): 2511–2521.
- [15] Nixon B, Stefanidou M, Mesquita PMM, Fakioglu E, Segarra T, Rohan L, Halford W, Palmer KE, Herold BC. Griffithsin protects mice from genital herpes by preventing Cell-to-Cell spread. *Journal of Virology*, 2013, 87(11): 6257–6269.
- [16] Levodosky K, Mizenina O, Martinelli E, Jean-Pierre N, Kizima L, Rodriguez A, Kleinbeck K, Bonnaire T, Robbiani M, Zydowsky TM. Griffithsin and carrageenan combination to target herpes simplex virus 2 and human papillomavirus. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2015, 59(12): 7290–7298.
- [17] Derby N, Lal M, Aravantinou M, Kizima L, Barnable P, Rodriguez A, Lai M, Wesenberg A, Ugaonkar S, Levodosky K, Mizenina O, Kleinbeck K, Lifson JD, Peet MM, Lloyd Z, Benson M, Heneine W, O’Keefe BR, Robbiani M, Martinelli E, Grasperge B, Blanchard J, Gettie A, Teleshova N, Fernández-Romero JA, Zydowsky TM. Griffithsin carrageenan fast dissolving inserts prevent SHIV HSV-2 and HPV infections *in vivo*. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 3881, doi: 10.1038/s41467-018-06349-0.
- [18] Balzarini J. Large-molecular-weight carbohydrate-binding agents as hiv entry inhibitors targeting glycoprotein gp120. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 2006, 1(5): 355–360.
- [19] Xue J. Investigation of the mechanism of griffithsin (GRFT): A potent HIV entry inhibitor. Doctor Dissertation of University of California, 2014.
- [20] Giomarelli B, Schumacher KM, Taylor TE, Sowder II RC, Hartley JL, McMahon JB, Mori T. Recombinant production of anti-HIV protein, griffithsin, by auto-induction in a fermentor culture. *Protein Expression and Purification*, 2006, 47(1): 194–202.
- [21] Fuqua JL, Wanga V, Palmer KE. Improving the large scale purification of the HIV microbicide, Griffithsin. *BMC Biotechnology*, 2015, 15: 12.
- [22] Fuqua JL, Hamorsky K, Khalsa G, Matoba N, Palmer KE. Bulk production of the antiviral lectin griffithsin. *Plant Biotechnology Journal*, 2015, 13(8): 1160–1168.
- [23] Vafaei Y, Alizadeh H. Heterologous production of recombinant anti-HIV microbicide griffithsin in transgenic lettuce and tobacco lines. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2018, 135(1): 85–97.
- [24] Hoelscher M, Tiller N, Teh AYH, Wu GZ, Ma JKC, Bock R. High-level expression of the HIV entry inhibitor griffithsin from the plastid genome and retention of biological activity in dried tobacco leaves. *Plant Molecular Biology*, 2018, 97(4/5): 357–370.
- [25] Vamvaka E, Arcalis E, Ramessar K, Evans A, O’Keefe BR, Shattock RJ, Medina V, Stöger E, Christou P, Capell T. Rice endosperm is cost-effective for the production of recombinant griffithsin with potent activity against HIV. *Plant Biotechnology Journal*, 2016, 14(6): 1427–1437.
- [26] Barton C, Kouokam J, Hurst H, Palmer KE. Pharmacokinetics of the antiviral lectin griffithsin administered by different routes indicates multiple potential uses. *Viruses*, 2016, 8(12): 331.
- [27] Barton C, Kouokam JC, Lasnik AB, Foreman O, Cambon A, Brock G, Montefiori DC, Vojdani F, McCormick AA, O’Keefe BR, Palmer KE. Activity of and effect of

- subcutaneous treatment with the broad-spectrum antiviral lectin griffithsin in two laboratory rodent models. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2014, 58(1): 120–127.
- [28] Kouokam JC, Lasnik AB, Palmer KE. Studies in a murine model confirm the safety of griffithsin and advocate its further development as a microbicide targeting HIV-1 and other enveloped viruses. *Viruses*, 2016, 8(11): 311.
- [29] Petersen KA, Matthiesen F, Agger T, Kongerslev L, Thiel S, Cornelissen K, Axelsen M. Phase I safety, tolerability, and pharmacokinetic study of recombinant human mannan-binding lectin. *Journal of Clinical Immunology*, 2006, 26(5): 465–475.
- [30] Kouokam JC, Huskens D, Schols D, Johannemann A, Riedell SK, Walter W, Walker JW, Matoba N, O'Keefe BR, Palmer KE. Investigation of griffithsin's interactions with human cells confirms its outstanding safety and efficacy profile as a microbicide candidate. *PLoS One*, 2011, 6(8): e22635.
- [31] Li L, Qiao XW, Chen J, Zhang YP, Zheng QS, Hou JB. Surface-displayed porcine reproductive and respiratory syndrome virus from cell culture onto Gram-positive enhancer matrix particles. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2018, 45(10): 889–898.

Research progress of griffithsin

Lan Li¹, Qisheng Zheng^{1*}, Jibo Hou^{1,2*}

¹National Research Center of Engineering and Technology for Veterinary Biologicals, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, Jiangsu Province, China

²Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou 225009, Jiangsu Province, China

Abstract: Griffithsin, originally isolated from *Griffithsia* spp. marine red algae., is a broad-spectrum antiviral lectin that inhibits viral entry through binding to viral glycoproteins. Drugs that inhibit virus's entry prevent infection of cells by cell-free virus particles and also prevent virus transmission between virus-infected and uninfected cells. Besides, griffithsin also has the advantages of good solubility, easy expression, strong stability, low immunogenicity and good safety. Thus, griffithsin, as a new potential class of antiviral drugs, has got the favor of scientists.

Keywords: lectin, viral envelope glycoproteins, antiviral, safety

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31772701) and by the Jiangsu Agriculture Science and Technology Innovation Fund (CX(18)3011)

*Corresponding authors. Tel/Fax: +86-25-84392008; E-mail: Jibo Hou, houjibocvv@163.com, Qisheng Zheng, immun_tech@163.com

Received: 30 October 2018; Revised: 17 January 2019; Published online: 13 March 2019