J. Korean Soc. Food Nutr.
23(2), 308 ~ 314(1994)

토란 Isolectin의 분석 및 특성

서영주† · 三好 正滿
일본 나라여자대학교 인간문화연구과

Analysis and Characterization of the Taro (*Colocasia antiquorum*) Isolectin

Young-Ju Seo† and Masamitsu Miyoshi
Human Life and Environmental Sciences Graduate Division of Human Culture, Nara Women's University, Nara 630, Japan

Abstract

Four Taro isolectins (Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ) were purified by ammonium sulfate, chromatography on CM-cellulose and isoelectric focusing. Ⅰ and Ⅳ lectins proved homogeneous by disk polyacrylamid gel electrophoresis and densitometric patterns. But in the presence of urea, Ⅳ lectin further dissociated into two different subunits. These lectins had different hemagglutinating activities and inhibition in their activities after mixed with pepsin particulary, but not with carbohydrates, heating, pH, urea, guanidine, trypsin, pronase and Ca^{2+}.

Key words : Taro isolectin, electrophoresis, densitometric patterns, isoelectric focusing, hemagglutinating activities

서 론

렉틴은 광범위한 물리 화학적 생물학적 기능을 가진 단백질 혹은 당단백질로서 정제되어 있다[1~3]. 예를들면 혈액형 특이적 적혈구 응집활성, 암세포 특이적 세포 응집활성, 임파구 분열 촉진 활성 등을 가지고 있으며, 현재 세포막의 연구나 암연구 등의 임상분야에로 새로운 길을 열고 있다[4~8].

렉틴의 분포에 관한 지금까지의 보고에 의하면 약 5000(5156) 종류의 동식물을 테스트한 결과 810 종류에서 렉틴이 발견되었으며, 그의 반 이상이 콩류였다[9~11]. 그외에도 곡류, 감자류, 야채류, 과일류, 버섯류, 해조류 및 동물조직에서도 발견되고 있다[12~20].

본인은 단백질 함량이 비교적 많은 감자류인 토란을 선택하여 렉틴을 분리 정제하여 물리화학적 특성 및 그 내열성에 대하여 보고한 바가 있고[21,22], 이전의 pure lectin에서 정제된 isolectin Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ에 대하여 subunit 검색 및 그 특성을 중심으로 검토를 하였기에 보고 한다.

재료 및 방법

Taro lectin의 정제

Taro의 껍질을 벗겨 3배량(w/w)의 증류수를 넣어, 분쇄 각반 후 6,000×g, 30분간 원심분리를 했다. 상청액에 80% $(NH_4)_2SO_4$ 분획 후 19,000×g, 30분 원심분리 후, 그 침전액을 증류수에 투석, 동결건조하여 표품으로 모아두었다. 위의 표품을 CM-cellulose (Whatman CM-52) Column (5×40cm)에 부하하여, 2,000ml acetic acid buffer용액으로 NaCl gradient법을 이용하여 활성 단백질을 용출시켰다. 이를 다시 Ampholine (pH 6~8)을 포함한 column에 충전, 초점전기영동을 행하였다.

물리 화학적 분석

Polyacrylamid disk 전기영동에 의한 순도 검정 (pH 4.0, pH 9.4)

CMC 용출후의 활성단백질, isolectin Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ, 그리고 isolectin의 부분적 혼합을 시료용액으로 하여 polyacrylamid gel을 지지체로 하는 pH 9.4 및 4.0용 gel

†To whom all correspondence should be addressed
†현주소 : 대구시 북구 관음동 롯데아파트 103동 1304호, 702-206

을 사용, Disk 전기영동을 하여 순도검정을 행하였다. 시료를 column 1개당 단백질용액으로서 10~20μg을 포함하는 20% 설탕용액으로서 첨가했다. pH 9.4용 gel에는 BPB, pH 4.0용 gel에는 Phyllonine G를 marker로써, gel 1개당 2mA에서 약 3시간 영동을 행하였다. 염색은 Coomassie Brilliant Blue stain용액에서 10분간 하였고, 7% 초산용액에서 탈색했다.

Densitometric pattern 및 polyacrylamid disk 전기영동(요소함유)에 의한 subunit 검색

초점전기영동 후의 시료용액을 전기영동 후 각 gel을 densitometry로 측정, 각각의 면적 비율로서 subunit 구성을 추적했다. 그리고 정제표품의 lectin 단백질을 구성하는 subunit간의 charge의 차이 유무를 검정하기 위해, 8M 요소를 포함한 pH 9.4용 gel을 조제해서 위의 방법으로 전기영동을 행하였다.

초점전기영동(요소 함유)에 의한 subunit 검색

정제표품의 subunit 검색을 확실히 밝히기 위해, 요소 함유의 자유계면 초점전기영동을 행하였다. Light-ampholyte, Conc-ampholyte 양액 중에 4M, 6M, 8M의 요소를 넣어, 밀도 균배형성을 한 양음극 용액에 대해서는, 요소를 포함하지 않은 초점전기영동과 같이, 5°C, 500V, 72시간 통전했다. 전기영동후 2ml씩 채취하여 pH 및 280nm에서의 흡광도를 측정했다. 그리고 필요 획분은 투석을 하여, 8M 요소 함유의 disk 전기영동을 하였다.

적혈구 응집활성에 영향을 주는 인자

이하의 실험에서는 mouse 적혈구(최종농도 1%)를 사용했다.

당

적혈구 응집활성이 단당류에 의해 저해되는지를 검토했다. 사용한 당은 glucose, lactose, fucose, mannose, xylose, galactose, galactouronic acid, arabinose, fetuin, n-acetyl-D-galactosamin, n-acetyl-D-glucosamin의 11종이었다. Lectin 용액은 안전률을 고려하여, 최종 응집농도의 2배량을 사용했다. 당은 이 lectin 농도의 1,000배를 사용하여 microtiter법의 2배 희석법으로 응집저해를 검토했다.

가열

정제 lectin을 30, 40, 60, 70, 80, 100°C에서 각각 20, 60분간 가열처리했다. 60, 70°C 가열은 20분에서 10분씩, 60분까지 가열했다. 가열종료 후 급냉하여 연속 2배 희석법으로 활성측정을 했다.

pH

반응액(lectin 전처리액)의 pH가 응집활성에 미치는 영향에 관해서 검토했다. pH 3, 4, 5, 6, 7(이하 0.1M 구연산 완충액), 8, 9, 10(이하 0.1M Tris-HCl완충액)을 사용했다. 1ml 시료용액에 4ml의 각 완충액을 넣어서 37°C의 incubator에서 1시간 방치 후 1M P. B. S.용액에서 5배 희석을 한 후 연속 2배 희석해서 활성측정을 했다.

변성제

요소, guanidine의 영향에 대하여 검토했다. 시료용액에 최종 농도가 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8 M이 되도록 변성제 용액 4.5ml를 넣고, 실온에서 1시간 방치 후, 연속 2배 희석하여 그 영향을 검토했다. 또 요소에 관해서는 8M 농도에서 2, 4, 6, 8 시간 후의 응집에 관해서도 살펴보았다.

효소

Pepsin, trypsin, pronase의 3종류의 단백질 분해효소에 관한 영향을 검토했다. Pepsin에 관해서는 HCl에서 pH 2로, trypsin과 pronase에 관해서는 인산완충액에서 pH 7.6으로 조정해 두었다. 각각의 효소는 시료용액의 1/100농도로써, 37°C incubator에서 각각 1, 3시간 처리하고 pepsin에 대해서는 0.1M Na_2HPO_4-NaOH완충액(pH 11.5)에서 pH 7 부근으로 조정해서 활성측정을 했다. 또 시료용액을 가열한 후에도 각각의 효소에 의한 활성변화 유무를 검토했다.

금속

토란 흑반병의 포자응집에 Ca^{2+}가 관여하고 응집을 촉진한다는 보고[23]나 콩 lectin의 subunit 해리가 Ca 이온에 의해 일어나며, HA 활성에도 영향을 준다는 보고에서, Ca 이온 첨가를 행하여 Na 이온을 control로하여 활성측정을 했다. 시료용액의 최종농도를 0.05M이 되도록 $CaCl_2$를 첨가하여 1시간 방치후, 연속 2배 희석법을 행하여 활성을 측정하였다. Control은 NaCl을 사용하여, Na^+을 Ca^{2+}과 비교 분석했다.

결과 및 고찰

Taro lectin의 정제

CMC 후의 활성단백질을 pH 6~8의 Ampholine을 포함한 초점전기영동 후 다시 활성이 있는 isolectin Ⅰ,

Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ를 얻었다.

물리 화학적 분석

Polyacrylamid disk 전기영동에 의한 순도검정 (pH 4.0, pH 9.4)

CMC 후 용출된 단백질 패턴에서 fraction #310, 330, 350, 370, 380을 증류수 투석 후, pH 9.4용 전기영동을 행한 결과, 번호가 클수록 +측에 가까운 band가 소실하고, 이동도가 작은 -측의 band가 진해지고 있다. Total activity의 결과도 고려해서 -에 가까운 band가 활성을 가진 단백질로 생각되었다. Band수를 추정해 보면 2종류에서 3종류의 단백질이 존재한다고 추측되며, pH 4.0용 전기영동의 결과에서도 적어도 2종류 이상의 단백질 존재가 추측되었다.

Isolectin 중 Ⅰ, Ⅳ의 획분은 균일한 band로서 전기영동적으로 단일한 것이라 생각되었다. Ⅰ과 Ⅱ, Ⅰ과 Ⅲ, Ⅰ과 Ⅳ, Ⅲ과 Ⅳ, Ⅰ, Ⅱ, Ⅳ 그리고 Ⅰ, Ⅲ, Ⅳ를 혼합해서 동시에 영동한 결과는 Fig. 1과 같다. Ⅱ와 Ⅳ의 혼합물을 전기영동한 결과, band는 2개이나 영동이 빠른 단백질은 Ⅰ에 상당하기 때문에 Ⅱ, Ⅳ의 단백질은 전기영동적으로 한개는 같은 단백질임이 판명되었다. 그러나, Ⅰ과 Ⅱ, Ⅰ과 Ⅳ의 혼합물의 영동결과에서 Ⅰ과 Ⅱ, Ⅱ와 Ⅳ의 단백질은 전기영동적으로 동일함이 판명되었다. Ⅰ과 Ⅲ, Ⅱ와 Ⅲ, Ⅲ과 Ⅳ fraction 혼합의 전기영동 결과에서 영동이 빠른 band의 단백질은 Ⅰ, 그리고 영동이 늦은 band는 Ⅳ에 상당했다. 즉 pH 6~8의 초점전기영동 결과, Ⅰ과 Ⅳ는 전기영동적으로 단일한 획분을 그리고 Ⅱ와 Ⅲ은 Ⅰ과 Ⅳ의 혼합획분이 얻어졌다.

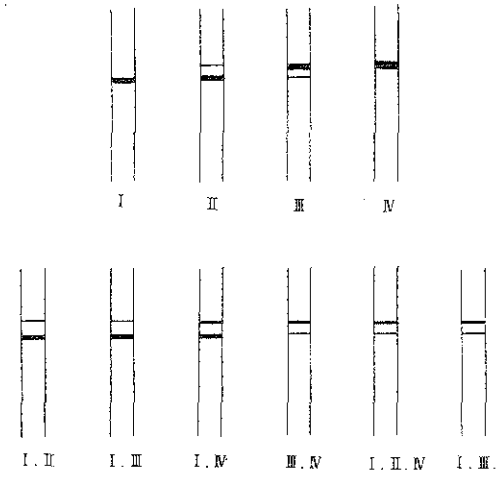

Fig. 1. Disk polyacrylamid gel electrophoresis of the fractions obtained by isoelectric focusing.

Densitometric pattern 및 polyacrylamid disk 전기영동(요소함유)에 의한 subunit 검색

먼저 토란의 isolectin Ⅰ~Ⅳ의 전기영동 gel을 densitometry에 넣은 후, 그려진 그래프상의 면적비율을 계산하였다. 그 결과 Fig. 2에서와 같이 Ⅱ는 1 : 1.93 그리고 Ⅲ은 2.3 : 1을 나타내었다. 따라서 Ⅰ획분 구성 subunit를 β-subunit, Ⅳ구성 α-subunit를 subunit라고 하면, Ⅰ획분은 3β, Ⅳ획분은 3α, Ⅱ획분은 $1\alpha \cdot 2\beta$ 그리고 Ⅲ획분은 $2\alpha \cdot 1\beta$의 subunit 구성이라고 추정 할 수 있다.

지금까지의 결과에서 isolectin Ⅰ과 Ⅳ는 단일 단백질, Ⅱ와 Ⅲ은 Ⅰ과 Ⅳ의 fabric이라고 생각되어, 각각을 구성하는 subunit의 검색을 행하기 위하여, Ⅰ에서 Ⅳ를 *8M* 요소 함유의 *pH* 9.4용 *disk* 전기영동을 행하였다. 그 결과 (Fig. 3), Ⅰ은 1개의 band, Ⅱ와 Ⅲ은 2개의 band 그리고 Ⅳa Ⅳb 모두 2개의 band가 나타났다. 여기서 Ⅳa는 Ⅳ fraction의 최초의 부분 (No. 50)을, Ⅳb는 뒤의 부분 (No. 52)을 전기영동한 것이다. 또한 Ⅰ~Ⅳ의 이동도를 비교하기 위해 Ⅰ과 Ⅱ, Ⅳa와 Ⅳb, Ⅰ과 Ⅲ, Ⅰ과 Ⅳ, Ⅱ와 그리고 Ⅰ · Ⅱ · Ⅲ · Ⅳ를 혼합후 전기영동을 행하였다 (Fig. 3).

Ⅰ · Ⅱ, Ⅳab, Ⅰ · Ⅲ은 2개 그리고 Ⅰ · Ⅳ, Ⅱ · Ⅲ, Ⅰ ·

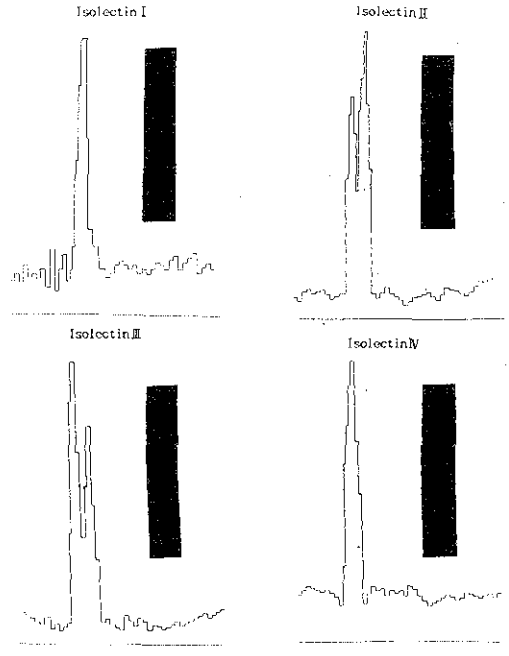

Fig. 2. Densitometric patterns of polyacrylamid gel electrophoresis of isolectins Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ and Ⅳ.

Ⅱ·Ⅲ·Ⅳ혼합은 3개의 band를 보였다. 위의 요소를 함유하지 않은 전기영동의 결과와 같이 고찰해 보면 다음과 같다. Ⅰ은 band 1개를 보이며 subunit는 1종으로 이루어짐이 추측된다. Ⅳ는 peak 전 후에서 2개의 band 농도가 다르게 나타났으며, Ⅳa에서는 영동거리가 가까운 것이 연하고, Ⅳb에서는 반대로 나타났다. 즉 Ⅳ는 2종류의 subunit로 성립된다고 생각된다. 또한 subunit가 Ⅳ fraction 내부에서 결합비율이 조금 다른 것에서 pH에 의해 2종류의 subunit결합의 해리상태가 변화하는 것도 생각할 수 있다. Subunit 해리가 pH 9.4용 전기영동의 알칼리 조건하에서, 더구나 요소가 함유된 상태에서 일어남을 생각해 볼 수 있다. Ⅳa, Ⅳb를 같은 비율로 혼합했을 경우, 2개의 band가 같은 농도를 나타내는 것에서 Ⅳ fraction 전체로서는 2종류의 subunit가 1 : 1의 결합을 하고 있다고 여겨진다. Ⅱ는, 요소를 포함하지 않은 disk 전기영동 및 요소포함의 전기영동 결과에서도 Ⅰ, Ⅳ의 fabric이라고 추측되었다. Ⅰ과 Ⅲ, Ⅱ와 Ⅲ, Ⅱ와 Ⅳ의 결과를 종합해 보면, Ⅱ의 이동속도가 빠른 band는 Ⅰ에, 늦은 band는 Ⅳb에 해당되었다. 그 구성비율에 관해서, 먼저 Ⅱ의 등전점은 Ⅰ과 Ⅳ의 등전점 6.3과 7.1에서 Ⅰ : Ⅳ=3 : 1로 생각해 볼때 6.5가 되고, 실제 Ⅱ의 pI는 6.4에 가깝고, Ⅰ : Ⅳ=3 : 1의 fabric 단백질임이 확인되었다. Ⅲ도 전기영동 결과 Ⅰ과 Ⅳa로 구성되어 있었으며, 그 구성비율에 관해서는 Ⅰ : Ⅳ=2 : 2로서 계산상 6.7이 되고, Ⅲ의 pI인 6.8

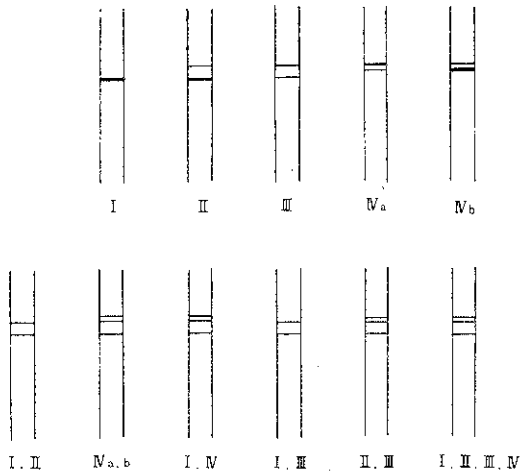

Fig. 3. Disk polyacrylamid gel electrophoresis (containing 8M urea) of the fractions obtained by isoelectric focusing.

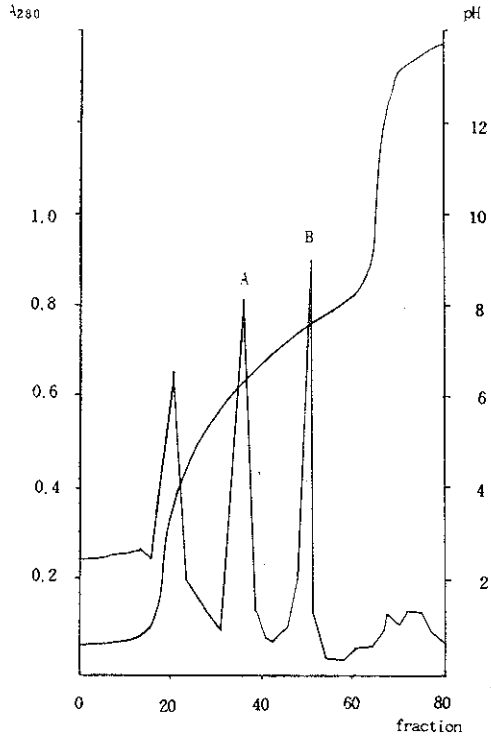

Fig. 4. Isoelectric focusing of crude lectin obtained after CM-cellulose chromatography.
(Ampholine pH 6~8, containing 4M urea)

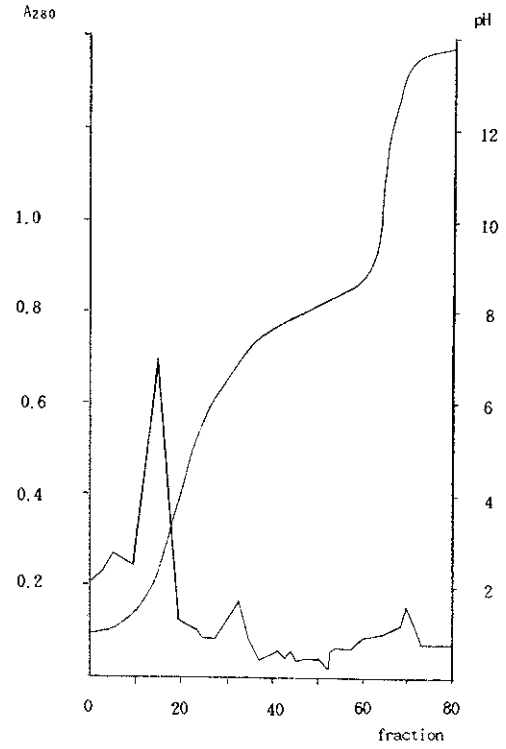

Fig. 5. Isoelectric focusing of isolectin Ⅰ.
(Ampholine pH 6~8, containing 4M urea)

에 가까운 수치가 얻어져서, Ⅲ은 Ⅰ : Ⅳ = 2 : 2의 fabric 단백질이라 계산되었다. 위와 같이 요소함유 전기영동 결과에서는 토란의 isolectin이 3종류의 subunit 구성으로 존재하는 단백질로서 추정되었으며 Ⅰ, Ⅳ는 단일 단백질이나 Ⅱ, Ⅲ은 Ⅰ, Ⅳ의 *fabric*인 것은 같은 결과로 판명되었다.

초점전기영동(요소함유)에 의한 subunit검색

CMC 후의 정제 lectin 10mg을 4M 요소를 함유한 초점전기영동을 한 결과가 Fig. 4이다. 2개의 peak 중 각각의 pI는 6.03, 7.41이었다. 초점적으로는 각각 약알칼리, 약산쪽이며, Ⅰ~Ⅳ의 단백질이 요소에 의해 그 결합이 깨어지고 본래 CMC 후의 lectin의 구성단백질인 Ⅰ, Ⅳ단백질로 해리되었다고 생각된다. Ⅱ, Ⅲ의 fabric 단백질의 subunit 해리가 4M 요소 포함의 초점전기영동에서는 충분히 일어나지 않고, Ⅰ에 상당한다고 생각되는 산성측에 함께 모여 있어서, pH 9.4의 disk 전기영동에서는 알칼리측에서 그 subunit 해리가 일어나고 2개의 band가 보여진다고 생각된다.

초점전기영동 후의 lectin Ⅰ을 4M 요소 함유 초점전기영동에서 그 순도를 검토한 결과가 Fig. 5이다. pI 6.48의 단일 peak를 보였으며 그 disk 전기영동에서도 1개의 band를 나타내었으므로, 앞에서 서술한 것과 같이 단일한 subunit에서 구성되어 있음이 증명되었다.

Lectin Ⅱ, Ⅲ을 혼합해서 8M 요소함유 초점전기영동을 한 pattern은 Fig. 6이다. A, B, C 3개의 peak가 보여졌으며 각각의 pI는 6.22, 6.63, 7.49였다. 지금까지의 추론으로, Ⅱ, Ⅲ은 Ⅰ, Ⅳ의 fabric이라고 생각되어, 요소함유의 초점전기영동의 결과는 2개의 peak가 될 것이라고 예상했으나, 3개의 peak로 나뉘어져, A는 Ⅰ, C는 Ⅲ에 상당한다고 생각될 수 있으나, B는 Ⅰ~Ⅳ 어느 것에도 상당하지 않고, 8M 요소 함유 disk 전기영동에서도 1개의 band를 보였기 때문에, 이 단백질이 Ⅰ~Ⅳ의 어느 단백질에 상당하는지는 재차 검토할 필요가 있다. 이 A, B, C의 적혈구 응집활성을 측정한 결과 A, B, C 모두 활성을 가지며, A가 가장 강하고 B, C는 유

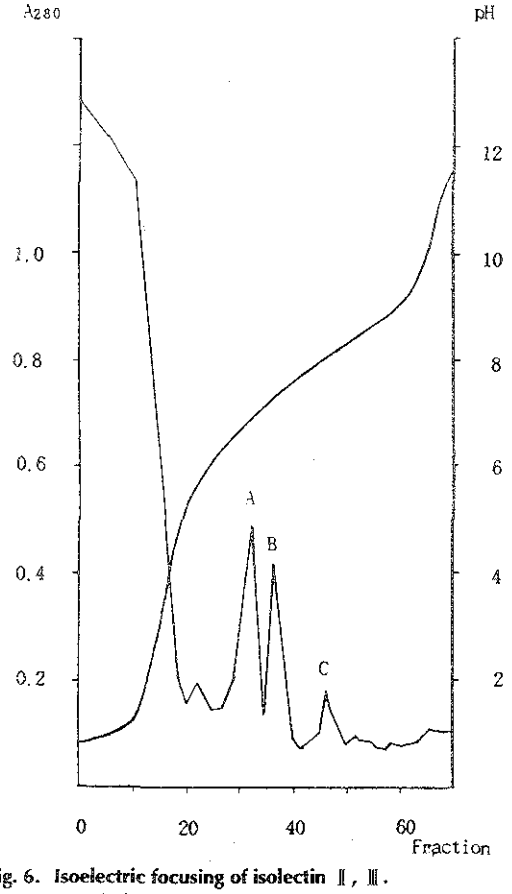

Fig. 6. Isoelectric focusing of isolectin Ⅱ, Ⅲ.
(Ampholing pH 6~8, containing 8M urea)

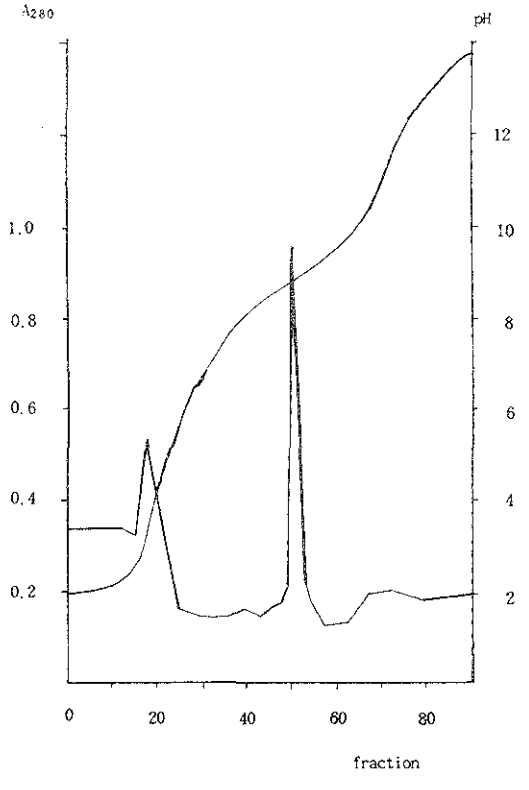

Fig. 7. Isoelectric focusing of isolectin Ⅳ.
(Ampholine pH 6~8, containing 6M urea)

사한 활성을 가짐이 판명되었다.

Lectin Ⅳ를 6M 함유 초점전기영동을 한 pattern은 Fig. 7이다. 단일 peak를 보이며, 8M 함유의 전기영동에서는 2개의 band를 보였다. 앞에서 설명한 것과 같이, Ⅳ는 2종류의 subunit로 구성되어 있다고 추정한 것에서 요소함유 초점전기영동에서 2개의 peak가 될 것이라 예상했다. 그러나 1개의 peak만이 나타난 것은 등전점이 서로 가까워서 해리하기 어렵거나 혹은 알칼리측(pH 9.4의 전기영동 조건)에서 해리하는 단백질이기 때문인가는 재차 검토할 필요가 있다. 앞으로의 과제로서는 Ⅳ가 알칼리 측에서 해리하기 쉬운 단백질인지 여부를 검토하기 위해, 알칼리에서 단백질을 처리해서, 요소함유의 초점전기영동을 한다던지 혹은 이전에 발표한 연구결과에서와 같이[21] 메티오닌, 시스테인이 함유되어 있으므로 subunit 결합에 S-S결합이 관여하고 있을 가능성 등의 문제 등도 검토할 필요성이 있다.

적혈구 응집활성에 영향을 주는 인자

당

사용한 단당류에 의한 응집저해는 나타나지 않고 당특이성 또한 보이지 않았다. 이는 토란 lectin에는 특이적인 당 receptor를 수용할 능력이 없음을 시사하고 있다.

가열

Ⅰ, Ⅳ를 여러가지 조건 아래에서 가열을 행한 결과 70°C, 1시간 가열에서도 활성이 그대로 남아 있었으며, 80°C 이상에서 활성이 소실되기 시작하나, 100°C, 20분까지 활성이 잔존했다. 즉 토란 lectin은 상당한 내열성을 가지고 있으며 활성소실은 단백질의 열변성에 의한 것으로 여겨진다.

pH

pH에 의한 영향은 거의 보이지 않고 pH, 강산, 강알칼리에서도 상당히 안정되어 있음을 알 수 있었다. 활성에 비교적 영향이 없는 60°C, 1시간 가열을 각 pH 완충액 중에서 행한 결과에서도 pH에 의한 활성에의 영향은 보이지 않았으나, pH 3에서만 다소 저하되었다. 가열에 의한 단백질의 변성도 산영향의 상호작용에서 HA 활성저하가 일어났다고 생각되나 그 메카니즘은 확실하지 않다.

변성제

요소에 대해서 8M 농도까지 검토한 결과, 8M, 6M, 4M, 3M의 농도에서 응집 활성저해가 보였다. 이 농도를 계속해서 희석해 가면 활성이 회복한 사실에서, 요소가 적혈구에 어떤 영향을 미친 것인지 요소에 의해 lectin의 subunit 해리가 일어나, HA 활성이 저해된 것인지는 분명하지 않다. 요소에 의해 HA 활성은 영향을 거의 받지 않음이 분명하다. 또한 8M 요소와의 반응시간을 8, 6, 4, 2, 0 시간으로 변화시켜 HA 활성에의 영향을 검토했다. 반응시간에 의한 HA 활성에의 영향은 보이지 않았다. Guanidine에 의한 HA 활성에의 영향도 거의 보이지 않았다. 그러나 8M, 6M의 고농도에서는 용혈이 일어나서 상세하게 검토할 수 없었다. 그러나 요소와 guanidine상호 결과에서 토란 lectin은 변성제에도 강한 특수한 단백질로 생각되어진다.

효소

Ⅰ에 관해서는 1시간에서 특히 pepsin에 의해 상당량 분해되고 HA 활성이 감소되었다. 그것에 비교해서 pronase에서는 거의 변화가 없었다. Ⅳ보다 Ⅰ이 효소에 의한 분해를 받기쉬웠다.

금속

Ca 이온에 의해 HA 활성 측정이 다소 저해되었다. 토란에서 lectin을 추출했을 때의 lectin액에 EDTA를 lectin의 1/1000 농도로 가하여 HA 활성을 검토해도 응집활성에의 영향은 보이지 않았다. 토란 lectin의 응집에는 금속은 관여하지 않는다고 생각되나 앞으로 정제 lectin에 대해서도 Ca를 포함한 다른 금속의 영향에 관하여 검토할 필요가 있다.

요 약

토란에서 정제한 lectin은 적혈구 응집활성이 서로 다른 4개의 획분(Isolectin Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ)으로 이루어진 당단백질로서, disk 전기영동 및 densitometric pattern 상에서 Ⅰ, Ⅳ는 단일한 subunit의 단백질로서, 그리고 Ⅱ, Ⅲ는 Ⅰ, Ⅳ의 fabric 단백질로서 추정되었다. 그러나, 요소 함유 disk 전기영동에서는 Ⅰ은 단일의, Ⅳ는 2종류의 subunit에서, Ⅱ, Ⅲ은 Ⅰ, Ⅳ의 subunit에서 구성된 단백질임을 알았다. 그래서 염소함유 초점전기영동에서도 isolectin Ⅳ는 2개의 peak가 될 것이라고 예상하였으나 실제로는 1개의 peak만이 나타났다. 또한 정제 lectin은 당, 가열, pH, 변성제, 금속에 대한 적혈구 응집저해는 거의 보이지 않았으나, pepsin에 의한 부분적인 활성 변화가 관찰되었다.

문 헌

1. Goldstein, I. I. and Hayes, C. E. : Carbohydrate-binding proteins of plant and animals. In "*Carbohydrate chemistry and biochemistry*" Tipson, R. T. and Horton, D. (eds.), Academic Press, New York, p.156 (1978)
2. Yeung, H. W. : Chemical and biological characterization of the galactose binding lectins from *Trichosanthes Kirilowii* root. *Int. J. Pept. Protein Res.*, **27**, 208 (1986)
3. Simpson, D. L., Thorne, D. R. and Loh, H. H. : Endogenous carbohydrate-binding proteins from verte-brate tissues. *Life Sci.*, **22**, 727 (1978)
4. Muscat, G. E., Caputo, A. and McCarirns, E. : Growth-related changes in specific mRNA upon lectin activation of human lymphocytes. *DNA*, **4**, 5 (1985)
5. Pferfer, R. W., Furby, F. H. and Berndt, M. C. : Modulation of lectin-stimulated lymphocyte agglutination and mitogenesis by estrogen metabolites ; effects on early events of lymphocyte activation. *Arch. Toxicol.*, **58**, 157 (1986)
6. Okamoto, M., Kawakami, H. and Hirano, H. : Seperation of soybean lectin-responding cells from rat bone marrow by combination of the adhension column method with discontinuous density gradient centrifugation. *Cell. Mol. Biol.*, **32**, 63 (1986)
7. Gilboa-Garber, N., Blanchard, D. and Asseraf, A. : Stimulation of peripheral lymphocytes from cancer patients and healthy subjects by *Pseudomonas aeruginasa* lectin. *FEMS Microbiol. Lett.*, **34**, 237 (1986)
8. Liener, I. E. : Nutritional significance of lectins in the diet. In "*The lectins functions and applifications in biology and medicine*". Liener I. E., Sharon, N. and Goldstein, I. J. (eds.), Academic Press, New York, p.623 (1986)
9. Kortt, A. A. and Caldwell, J. B. : Isolation of the acidic and basic lectins from winged bean seed (*Psophocarpus tetragonolobus*). *J. Sci. Food Agric.*, **9**, 36 (1985)
10. Harley, S. M. : Lectins in castor bean seedings. *Plant Physiol.*, **1**, 80 (1986)
11. Fischer, J., Klein, P. J., Farrar, G. H., Hanisch, F. G. and Uhlenbruck, G. : Isolation and chemical and immunochemical characterization of the peanut-lectin binding glycoprotein from human milk-fat-globule membranes. *Biochem. J.*, **224**, 581 (1984)
12. Desai, N. N., Allen, A. K. and Neuberger, A. : Studies on the chemical modification of rabbit liver lectin and its effect on the binding activity. *Biochem. Si. Trans.*, **6**, 13 (1985)
13. Van-Holst, G. J., Ziscz, P., Franz, H. and Lutsch, G. : Protein conformation of Photato (*Solanum tuberosum*) lectin determined by circular dichroism. *Biochem. J.*, **233**, 731 (1986)
14. Chapot, M. P. : Extecsive homologies between lectins from non-leguminous plants. *FEBS Lett.*, **195**, 231 (1986)
15. Poola, I., Soni, G. L. and Jindal, S. : Purification and saccharide-binding characteristics of a rice lectin. *Carbohydr. Res.*, **146**, 205 (1986)
16. Oda, Y. and Kasai, K. : Monoclonal antibodies against a β-galactoside-binding lectin of chick embryo. *J. Biochem.*, **99**, 1063 (1986)
17. Nsimba, L. M. : Seasonal fluctuations of lectins in barks of elderberry (*Sambucus nigra*) and black locust-(*Robinia Pseudoacasia*). *Plant Physiol.*, **80**, 747 (1986)
18. Gilboa-Garbar, N., Susswein, A. J., Mizrahi, I. and Avichezer, D. : Purification and characterization of the gonad lectin of Aplysia depilans. *FEBS Lett.*, **181**, 267 (1985)
19. Kitagaki, H., Seno, N., Yamaguchi, H. and Matsumoto, I. : Isolation and characterization of a lectin from the fruit of *Clerodendron trichotomum*. *J. Biochem.*, **97**, 791 (1985)
20. Bretting, H., Stainslawski, E., Jacobs, G. and Becker, W. : Isolation and characterization of a lectin from the snail *Biophalaria glabrata* and a study of its combining site. *Biochim. Biophys. Acta*, **749**, 143 (1983)
21. 紙容五月, 徐榮珠, 三好正滿 : さといもれくちんの精製と諸性質. 日本家政學會紙, **38**, 455 (1987)
22. 徐榮珠, 紙容五月, 三好正滿 : さといもれくちんの耐熱性といもの保存や發芽における含量變化. 日本家政學會紙, **40**, 805 (1989)
23. Mineo, K., Kazuhiro, K. and Ikuzo, U. : Studies on a factor in sweet potato root which agglutinates spores of *Ceratocystis fimbriata, Black rot* fungus. *Plant Physiol.*, **69**, 474 (1982)

(1994년 2월 16일 접수)