

한국산 장류콩 종자 렉틴의 생화학적 특성

王玉珊 · 노광수*

계명대학교 생물학과

Biochemical Properties of Seed Lectin from Korean Soybean Cultivars Developed for Soy Source

Yushan Wang and Kwang Soo Roh*

Department of Biology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

Abstract Lectin was finally isolated on Sephadex G-100 from Korean soybean cultivars developed for soy source and investigated its some biochemical properties. Native PAGE pattern of this lectin revealed a molecular weight of 108 kDa as tetramer. The molecular weight of this lectin isolated as double protein band by SDS-PAGE was calculated to be 32 and 22 kDa from the relative mobilities compared with those of the standard proteins. Among the tested red blood cell, the isolated lectin agglutinated rabbit red blood cell treated with trypsin, but did not agglutinated human red blood cells (A, B, AB, O), rat, and untreated rabbit red blood cell. The optimal temperature and thermal stability of isolated lectin was at 20-50°C and 10-60°C, respectively. This lectin was stable at 7.2, and showed complete loss in its activity below pH 6.2 and above pH 8.0.

Keywords: Biochemical property, hemagglutination activity, Korean soybean cultivars, lectin

서 론

우리나라와 중국의 북부지방이 원산지인 콩은 단백질과 지질을 주성분으로 하는 콩과의 1년생 초본 식물로서, 우리나라를 비롯한 동양권에서 식생활의 영양공급원으로 사용되며, 다양한 가공식품으로 이용되고 있다. 용도별로 장류용, 나물용, 밥밑용, 풋콩 및 올콩 등으로 나눌 수 있는데, 이 중 장류는 간장, 된장, 고추장, 청국장 등의 콩 발효제품으로서 우리나라에서 가장 대표적인 전통식품 중의 하나이다.

품질 개량된 장류용 콩은 고단백질을 함유하고 있으며, 특징으로서 종피와 배꼽색이 황색이다. 두부와 두유용 콩을 양질로 취급하여 현재 장류용 콩으로서 육성되고 있다. 이러한 두부와 두유용으로 사용되는 장류용 콩 품종은 전 세계적으로 전체 재배면적의 약 70%를 차지하고 있으며, 시장규모가 연간 9,000억불에 달하고 있다.

Lectin은 쌍자엽식물(1)과 단자엽식물(2)에서 발견되는

데, 이중 종자에 가장 많이 존재하며, 잎, 줄기, 뿌리(3)와 캘러스(4)에서도 확인되었다. 대부분의 식물성 lectin은 소포체 막 표면에서 합성된 후, 액포나 세포벽 및 세포간 공간에 축적되는 분비성단백질로서(5), 종자와 자엽의 액포에 축적되었다가 종자의 발아 과정에서 분해되어 유식물의 성장에 이용된다(6).

세포 표면의 당과 특이적 또는 비특이적으로 결합하여 세포를 응집시키는 능력을 지닌 lectin의 성질을 이용하여(7). 다당류, 당단백질 및 특정효소를 분리하기도 하고(8), 혈액형 검사 및 면역학적 연구 등에 이용되기도 한다(9). 세포의 응집반응은 세포막과 밀접한 관계가 있는데, 수용체, 세포막의 특성과 활성 등에 의해 영향을 받는다(10). 세포표면에 존재하는 당에 lectin이 결합하면 세포 표면에서 일어나는 변화가 세포 내로 그 신호가 전달된다(11).

Lectin은 식물에 대한 병원성 미생물이나 해충 등의 공격에 대비하는 방어단백질로서의 기능을 가지고 있으며(12, 13), 세포벽과 원형질막 간의 상호작용에도 관여한다(14).

본 연구에서는 약용으로서의 기능을 지닌 실용성 식물로서 뿐만 아니라 식생활에 이용하기 위해 개발된 한국산 장류콩 종자로부터 분리한 lectin의 분자량, 적혈구 응집력,

*Corresponding author

Tel: +82-53-580-5207, Fax: +82-53-580-5164
e-mail: rks@kmu.ac.kr

온도, 열 안정성, 및 pH의 생화학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

식물재료

전국대 정우석 교수 연구실에서 개발한 한국산 장류콩 종자를 본 실험의 재료로 사용하였다.

Lectin의 분리

Kilpatrick(15)의 방법으로 lectin을 분리하였다. 한국산 장류콩 종자를 분쇄기에 넣고 분쇄한 후, 0.15 M PBS (NaCl/0.1 M sodium phosphate buffer)를 넣어 밤새 교반하였다. 8겹의 거즈를 사용하여 여과한 용액을 1,000x g에서 원심분리를 하여 상등액인 crude extract를 얻었다. 이에 50%의 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 서서히 넣어 완전히 용해시켜 밤새 교반한 다음, 40,000x g에서 1시간 원심분리하였다. 침전물을 소량의 neutral saline (Na_2HPO_4 를 사용하여 pH 7.0으로 조절된 0.9% NaCl 용액)에 용해시킨 다음, neutral saline으로 24시간마다 교환하면서 48시간 투석하였다.

투석액을 40,000x g에서 30분간 원심분리하여 얻은 상등액에 trypsin을 처리한 적혈구를 가하여 실온에서 15분간 흔들어 주었다. 1,000x g에서 5분간 원심분리하여 얻은 침전물에 5배의 neutral saline을 가하여 3번 세척한 후, N-acetylglucosamine을 처리하여 실온에서 5분간 흔들어주었다. 1,000x g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 얻고 침전물에 다시 N-acetylglucosamine을 가하여 위의 과정을 반복하였다. 얻어진 상등액을 합친 다음, neutral saline으로 24시간 간격으로 교환하면서 5일간 투석하고, 이를 PM 30 membrane filter로 고정된 Amicon cell을 사용하여 ultrafiltration하였다.

Neutral saline으로 평형화시킨 Sephadex G-100 column (1.5 × 20cm)에 여과액을 주입한 다음, neutral saline을 사용하여 0.2 mL/min의 유속으로 각 분획 당 3 mL를 용출하였다. 활성이 높은 분획을 0°C에 보관하였다. 언급이 없는 과정은 단백질의 변성을 막기 위하여 4°C에서 수행하였다.

단백질 함량의 측정은 BSA를 표준물질로 하여 Bradford(16)방법에 따라, microplate reader (Bio-Rad)를 사용하여 595 nm의 단일파장에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

혈액의 특이성 측정

Trypsin 미처리구와 trypsin을 처리한 사람의 ABO 혈액, 쥐 및 토끼의 혈액을 neutral saline으로 세척한 후, 2% 적혈구 부유액을 만든 다음, 이들을 분리한 lectin 용액과 반응시켜 적혈구 응집 여부로서 혈액의 특이성을 측정하고, 또한 혈액 응집반응에 따른 응집 여부를 조사하였다.

적혈구 응집반응의 측정과 lectin의 활성 측정

적혈구 응집반응의 측정은 Takatsy(17)의 방법을 변형하여 사용하였다. Microtiter plate에 neutral saline과 분리한 lectin 용액을 넣어 2배 연속 희석법으로 희석하였다. Trypsin을 처리한 토끼의 혈액을 가하여 30°C에서 10분간 반응시킨 후, 응집 여부를 확인하였다. 토끼의 혈액은 neutral saline에 0.25% trypsin을 가하여 활성화 시킨 2% 적혈구 부유액을 사용하였다.

적혈구 응집 반응은 육안으로 선행 확인한 다음, 현미경을 사용하여 최종적으로 확인하였다. Lectin의 활성은 혈구 최종응집을 나타내는 희석 배수를 역수로 계산하여 나타내었다.

PAGE와 분자량 측정

Native 전기영동은 Williams와 Reisfeld(18)의 방법에 의해, 7.5% polyacrylamide gel을 사용하여 20 mA에서 2시간 전기영동한 후 amido black 10B로 염색하고 acetic acid로 탈색시켰다.

SDS-PAGE는 Laemmli(19)의 방법에 따라, 12% gel을 사용하여 30 mA에서 1시간 동안 실행한 후, gel을 Coomassie brilliant blue R-250으로 염색하고, acetic acid로 탈색시켰다.

Weber와 Osborn(20)의 방법에 의해, 분자량은 전기영동한 lectin과 표준 단백질에 대한 상대이동도 (Rf)와 단백질 분자량에 대한 대수값을 통해 계산하였다. rabbit muscle phosphorylase b (97 kDa), bovine serum albumin (66 kDa), chicken egg white ovalbumin (45 kDa), bovine erythrocyte carbonic anhydrase (30 kDa), soybean trypsin inhibitor (20.1 kDa) 및 α -lactalbumin (14.4 kDa)을 표준 단백질로 사용하였다.

최적 반응온도 측정

분리한 lectin의 최적 반응온도를 알아보기 위하여 온도 변화에 따른 활성을 측정하였다. 분리한 lectin을 2배 연속 희석법으로 연속 희석하고, 활성화 시킨 토끼의 2% 적혈구 부유액을 넣은 다음, 10-90°C 사이의 각 온도에서 혈구 응집 반응을 측정하였다. 최대 희석 배수의 residual activity를 100%로 하여 잔존하는 lectin의 상대적인 활성을 계산하였다.

열 안정성 측정

분리한 lectin의 열 안정성을 알아보기 위하여, 분리한 lectin을 2배 연속 희석법으로 희석한 다음, 10-90°C 사이의 온도에서 각 10분간 열처리한 후, 적혈구 응집 반응을 통해 잔존하는 상대적 lectin의 활성을 측정하였다.

pH 안정성 측정

분리한 lectin의 pH 안정성을 알아보기 위하여, pH 2.0-10.0 사이 buffer를 각각 사용하여 4°C에서 4시간 투석 후, 적혈구 응집 반응을 통해 잔존하는 상대적 lectin의 활성을 측정하였다. 이때 buffer는 0.025 M glycine-HCl buffer (pH 2.0), 0.2 M acetate buffer (pH 3.2, 4.2), 0.01 M phosphate buffer (pH 6.2, 7.2), 0.2 M Tris buffer(pH 8.0, 9.1), 0.2 M carbonate-bicarbonate buffer (pH 10)를 사용하였다.

결과 및 고찰

Lectin의 분자량

Lectin의 분자량은 다양하여 동일한 lectin이라도 서로 다른 값을 갖으며, 저분자량의 monomer(21, 22)도 있으나, 일반적으로 dimer 또는 tetramer의 25-35 kDa의 분자량을 가지는 subunit들로 구성된 단단백질이다(3, 7).

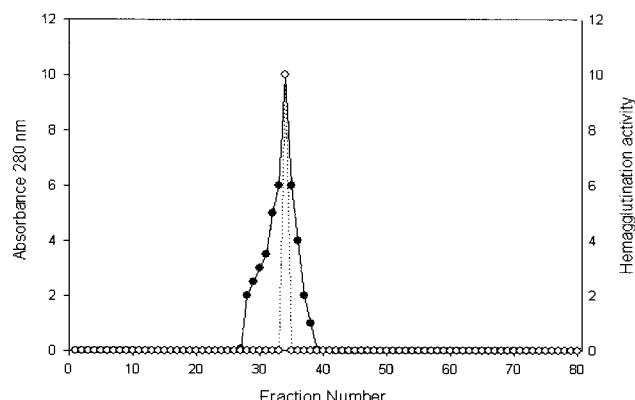


Fig. 1. Fractionation profile of lectin isolated on Sephadex G-100 from Korean soybean cultivars. The bound lectin was eluted with neutral saline. Hemagglutination activity was determined using rabbit red blood cell treated with trypsin. ●: optical density, O: hemagglutination activity.

한국산 장류콩 종자로부터 PBS를 이용하여 추출하고, ammonium sulfate를 이용하여 침전시킨 후, Sephadex G-100 상에서 lectin을 분리하였다(Fig. 1). Native 전기영동의 결과, 단일 band로 나타났으며, 이의 분자량은 108 kDa로서 측정되었다(Fig. 2). 이는 작두콩 종자(23)와 shoot lectin(24)의 102 kDa와 비슷하나, soybean lectin의 120 kDa(25), 강낭콩 유식물 lectin의 180 kDa(26), tepary bean의 115-120 kDa(27)에 비해 약간 작은 분자량을 가진다. 따라서 콩과 식물들은 분자량이 100-180 kDa의 범위를 갖는 것으로 조사되었다.

SDS-PAGE한 결과, 2개의 band로 나타났으며(Fig. 3), 이 각 band에 대한 분자량은 각각 32 kDa와 22 kDa로 측정되어 tetramer임을 알 수 있었다(Fig. 4). 이 결과는

장류콩 종자 lectin이 2종류의 subunit로 구성된 tetramer로서, subunit간에 S-S bond들에 의해 공유적으로 결합되어 있음을 의미한다(28). 장류콩 종자 lectin은 작두콩 종자(23)와 shoot lectin(24)의 29 kDa 와 22 kDa와 비슷하며, 또한 31 kDa의 homodimeric인 pinto bean lectin(29)과도 유사하다. 그러나 garden pea lectin의 5 kDa와 18 kDa, 그리고 강낭콩 유식물 lectin의 46 kDa와 44 kDa(26)와는 차이가 있다. 39 kDa와 23 kDa의 분자량을 가지는 토마토 locular fluid lectin(30)과, 30 kDa과 32 kDa의 한국산 겨우살이 lectin(31)은 약간의 차이를 보였다. Sultan 등(28)은 조롱바 종자 lectin은 55 kDa의 단일 band로서 34와 37kDa의 분자량을 가진다고 보고 하였다.

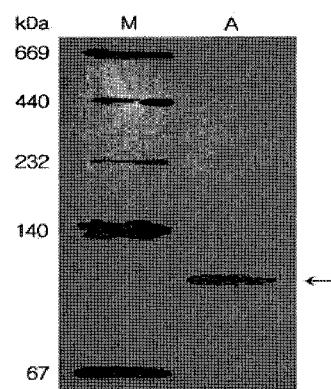


Fig. 2. Native PAGE pattern of lectin isolated from Korean soybean cultivars. The electrophoresis was performed with 7.5% gels at 20 mA for 2 hrs. The molecular weight markers (M) were thyroglobulin (669 kDa), ferritin (440 kDa), catalase (232 kDa), lactate dehydrogenase (140 kDa), bovine serum albumin (67 kDa). A indicates isolated lectin.

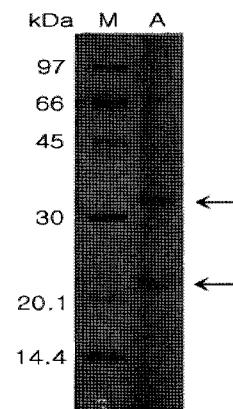


Fig. 3. 12% SDS-PAGE pattern of lectin isolated from Korean soybean cultivars. The gels were run at 30 mA for 1 hr and stained with Coomassie brilliant blue R-250. Arrows indicate Korean soybean cultivar lectin. The molecular weight markers (M) were rabbit muscle phosphorylase b (97 kDa), bovine serum albumin (66 kDa), chicken egg white ovalbumin (45 kDa), bovine erythrocyte carbonic anhydrase (30 kDa), soybean trypsin inhibitor (20.1 kDa), α -lactalbumin (14.4 kDa). A indicates isolated lectin.

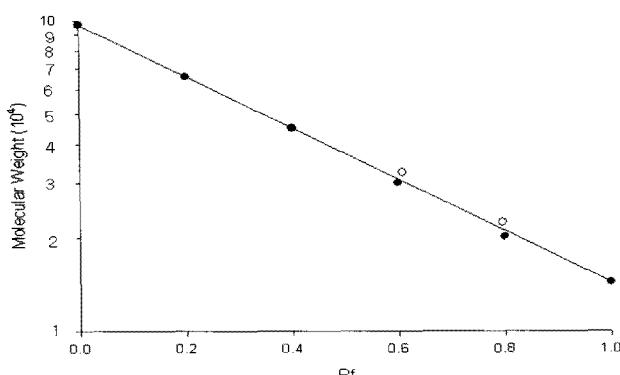


Fig. 4. Determination of molecular weight of lectin isolated from Korean soybean cultivars. Closed circles (○) indicate isolated lectin. The molecular weight markers (●) were rabbit muscle phosphorylase b (97 kDa), bovine serum albumin (66 kDa), chicken egg white ovalbumin (45 kDa), bovine erythrocyte carbonic anhydrase (30 kDa), soybean trypsin inhibitor (20.1 kDa), α -lactalbumin (14.4 kDa).

혈액의 특이성

Lectin은 세포 표면의 당과 특이적으로 결합하는 탄수화물 결합 단백질로서 세포를 응집시키는 능력을 가지고 있기 때문에(7). 혈구응집반응은 적혈구 또는 효소로 활성화시킨 적혈구를 사용하여 2-fold serial dilution법으로 최종점을 측정하는데(32), 본 실험에서는 lectin의 활성 측정에 trypsin으로 처리된 적혈구를 이용하여 응집여부를 육안으로 검색한 후, 현미경 하에서 최종 확인하였다.

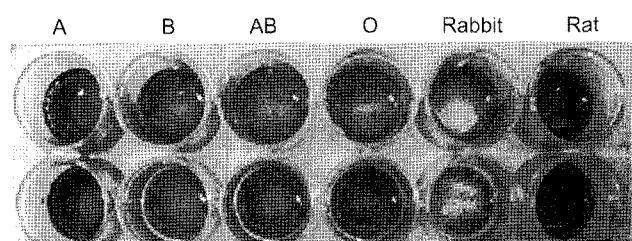


Fig. 5. Hemagglutination effect of Korean soybean cultivars lectin on human ABO, rabbit, and rat blood. Upper : no treated with trypsin. Lower: treated with trypsin.

장류콩 종자에서 분리된 lectin에 trypsin으로 처리된 사람의 ABO형 혈액, 쥐 및 토끼의 혈액과 trypsin을 처리하지 않은 혈액들을 가하여 각각의 혈구 응집반응을 측정한 결과, trypsin을 처리하지 않은 혈액들에서는 전혀 응집반응이 일어나지 않았으며, trypsin을 처리한 혈액 중 사람의 적혈구(A, B, AB, O형)와 쥐의 적혈구에서도 아무런 반응을 보이지 않은 반면, 토끼 적혈구에서만 강한 혈구 응집반응을 일으키는(Fig. 5) 혈액의 종류에 따른 특이성을 나타내었다. 단자엽 식물인 Himalayan Cobra lily 괴경 lectin receptor가 사람의 ABO 혈액형에는 없으나 토끼, 쥐 양 및 말의 적혈구에는 존재한다는 보고(33)로 보아 receptor와 관련이 있으

며, 장류콩 종자 lectin이 토끼 적혈구 표면의 당 잔기에 대해 특이성이 높은 receptor로 되어 있는 것으로 추측된다(34).

작두콩 종자 lectin(23)에서도 토끼 혈액의 적혈구에서만 혈액 특이성을 나타냈으나, 방울토마토 열매(35)와 토마토의 locular fluid lectin(30)은 사람 혈액의 적혈구에 모두 혈구응집 반응을 나타냈으며, 특히 B형 혈액의 적혈구에서 가장 양호한 반응을 나타냈다. 이와 같이 lectin은 적혈구의 종류에 따라 혈구응집 반응이 다르게 일어나는 적혈구에 대한 당 특이성과, trypsin 처리의 유무에 따라 적혈구 응집반응이 다르게 나타나는 혈액 활성에 따른 특이성이 있음을 알 수 있었다.

최적 반응온도

장류콩 종자 lectin의 최적 반응 온도를 조사하기 위해 10-90°C의 범위에서 상대적인 활성을 측정한 결과, 20-50°C에서 가장 높은 적혈구 응집 반응을 보여 이 온도의 범위가 정제된 lectin의 가장 안정적인 반응 온도임을 알 수 있었으며, 이는 Himalayan Cobra lily 괴경 lectin의 최적 온도와 일치하였다(33). 10°C에서는 80%, 60°C와 70°C에서는 60%의 응집 반응을 보였으며, 80°C 이상에서는 활성이 떨어져 응집반응을 전혀 보이지 않았다(Fig. 6). Pinto bean lectin도 70°C까지 안정하다고 하였으며(29), 강낭콩 유식물 lectin의 안정적인 반응온도는 20-60°C로서 60°C 이상에서는 활성 능이 현저히 떨어져 70°C에서는 혈구 응집반응을 보이지 않았다(26). 이는 본 연구와 비교하여 안정적 온도는 비슷하였으나 응집반응을 보이지 않은 온도는 차이가 있었다. 또한 Zizyphus mauritiana 종자 lectin에서는 80-100°C의 고온에서 완전하게 활성이 상실되었다는 Gupta와 Srivastava(21)의 결과와 일치하였다. 작두콩 종자(23)와 shoot lectin(24)의 최적온도는 40°C로서 장류콩 종자의 최적온도 범위에 존재하였다. 그러나 가지의 최적 반응온도 범위는 10-20°C로서 장류콩 종자보다 저온에서 안정하였다.

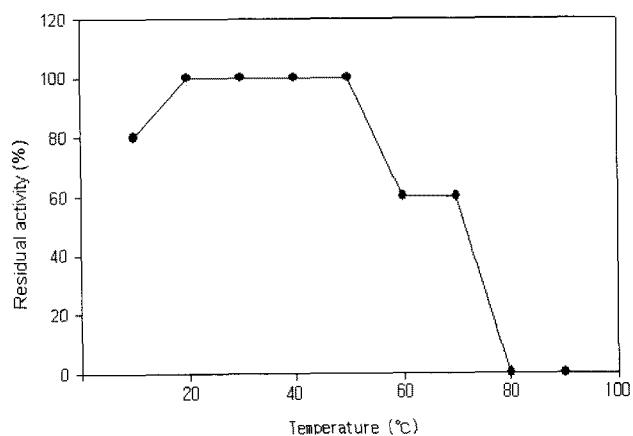


Fig. 6. Effect of temperature on hemagglutination activity of lectin isolated from Korean soybean cultivars. The lectin activity was tested by incubation at 10-90°C, respectively.

열 안정성

Winged bean lectin의 열안정성은 70°C 까지 안정하나 95°C에서 활성이 완전 소멸된다(36). 본 실험에서 10-90°C에서 10 분간 열처리 후 상대적인 활성을 측정한 결과, 40°C 이상에서 불안정한 다른 lectin들과는(37) 달리, 정제된 lectin은 10-60°C에서 활성이 80% 이상 유지되어, 비교적 넓은 온도 범위에서 열에 안정한 열 안정성 당단백질이다. 그러나 70°C부터 활성이 현저히 감소하여 80°C 이상에서는 전혀 응집반응이 나타나지 않았다(Fig. 7). 이는 50-70°C의 작두콩 종자(23)와 50-60°C의 작두콩 shoot lectin(24)의 결과와 일부 온도에서 일치하였다. 20-70°C의 가지 lectin(38)과 유사하였다. 강낭콩 종자 lectin이 40-80°C에서 안정하였으나(26) 장류콩 종자에서는 80°C에서 완전 소멸되었다. 또한 겨우살이 lectin이 50°C까지는 안정성을 가지고, 60°C 이상에서는 활성이 억제 된다는 보고(31)와는 약간의 차이가 있다.

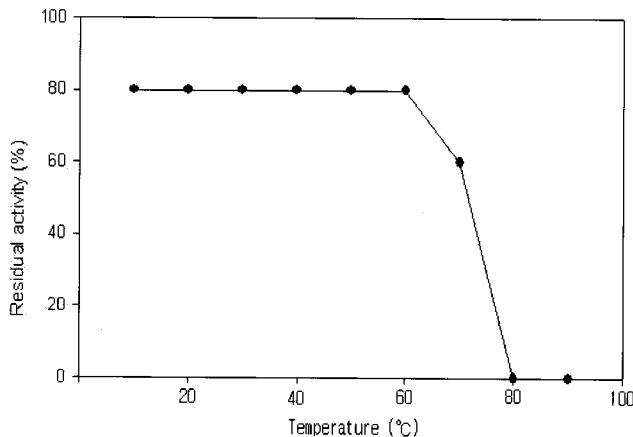


Fig. 7. Thermal stability of lectin isolated from Korean soybean cultivars. The lectin was preheated for 10 min at 10-90°C, respectively.

pH 안정성

H⁺의 증가에 따른 이온화의 변화는 금속이온들의 약한 결합을 유도하여 활성을 최대로 증가시킬 수 있으나, OH⁻이온의 증가는 lectin의 이온화를 유발시켜 lectin과 적혈구 막 사이의 결합력에 영향을 미치게 되고, 이는 결과적으로 활성의 상실을 유도하게 된다(39). 장류콩 종자 lectin을 pH 2.2-10에서 상대적인 활성을 측정한 결과, 최적 pH는 7.2로 나타났다(Fig. 8). 이는 pH 7.2의 작두콩 shoot lectin(24)과 작두콩 종자(23)와 일치하였으며, 가지 종자 lectin은 pH 6.2-7.2에서 안정적으로 약간의 차이는 있으나 본 연구 결과와 일치하였다. 그러나 pH 8.2의 강낭콩 종자 lectin(26)과는 차이가 있다. 또한 땅콩 뿌리 lectin(40)과 *Ziziphus mauritiana* 종자 lectin(21)의 pH 7.0-7.5의 범위 와도 약간의 차이가 나타났다. pH 2.2-6.2 범위에서는 약간

의 활성을 지니나 pH 8.0 이상에서는 완전히 소실되었는데, 가지 열매 lectin이 pH 3.2 이하와 pH 8.0 이상에서 활성이 소멸된다는 보고와는 일치하였으나, winged bean lectin이 산성 pH에서 안정하다는 Higuchi와 Iwai(36)의 결과와는 상이하였다. pH 2.0에서 10 까지의 넓은 최적 범위를 갖는 Himalayan Cobra lily 괴경 lectin과 비교하면 최적 조건이 매우 좁다(33).

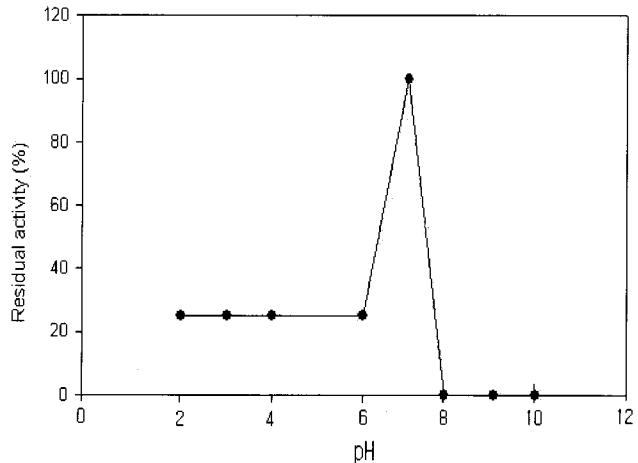


Fig. 8. Effect of pH on hemagglutination activity of lectin isolated from Korean soybean cultivars. The lectin was incubated in different pH for 4 hr at 4°C.

요약

한국산 장류콩 종자로부터 최종적으로 Sephadex G-100 상에서 분리한 lectin의 분자량, 적혈구 응집력, 온도, 열 안정성, 및 pH의 생화학적 특성을 조사하였다. 분리된 lectin을 SDS-PAGE한 결과, 분자량이 32 kDa와 22 kDa인 2개의 band가 나타났으며, Native PAGE에 의해서 108 kDa의 tetramer임을 알 수 있었다. Lectin은 trypsin을 처리한 사람의 A, B, AB, O 혈액과 쥐 혈액에서 혈구응집 반응이 일어나지 않았으나 토끼에서는 응집 반응이 일어났으며, trypsin을 처리하지 않은 모든 혈액에서는 응집반응이 일어나지 않았다. 이 lectin은 최적온도가 20-50°C이며, 10-60°C에서 열 안정성을 보였다. 최적 pH는 7.2로서 6.2 이하와 8.0 이상에서는 활성이 상실되었다.

감사

이 논문은 2008년도 1학기 계명대학교 대학원 학생 학술연구 장학금에 의해 연구되었음.

접수 : 2009년 2월 14일, 게재승인 : 2009년 4월 12일

REFERENCES

1. Sharon, N. and H. Lis (1990), Legume lectins-a large family of homologous proteins. *FASEB J.* **4**, 3198-3208.
2. Van Damme, E. J. M., F. Brike, H. C. Winter, F. Van Leuven, I. J. Goldstein, and W. J. Peumans (1996), Molecular cloning of two different mannose-binding lectins from tulip bulbs. *Eur. J. Biochem.* **236**, 419-427.
3. Spilatro, S. R., G. R. Cochran, R. E. Walker, K. I. Cablisch, and C. C. Bittner (1996), Characterization of a new lectin of soybean vegetative tissues. *Plant Physiol.* **110**, 825-834.
4. Borrebaeck, C. A. K. and L. Linsefors (1985), Hormonal regulation of the lectin biosynthesis in callus culture of the *Phaseolus vulgaris* plant. *Plant Physiol.* **79**, 659-622.
5. Ceriotti, A., A. Vitale, and R. Bollini (1989), Lectin-like proteins accumulate as fragmentation products in bean seed protein bodies. *FEBS Lett.* **250**, 157-160.
6. Puszta, A. (1991), Plant Lectins. Cambridge University Press, New York.
7. Etzler, M. E. (1986), Distribution and function of plant lectins. In *The Lectins: Properties, Functions, and Application in Biology and Medicine*. I. E. Liener, and N. Sharon Eds.; Academic Press, New York, pp371-435.
8. Fujihara, J., Y. Hieda, Y. Xue, I. Okui, K. Kataoka, and H. Takeshita (2006), Single-step purification by lectin affinity and deglycosylation analysis of recombinant human and porcine deoxyribonucleases I expressed in COS-7 cells. *Biotech. Letters* **28**, 215-221.
9. Wagner, H., E. Jordan, and B. Feil (1986), Studies on the standardization of mistletoe preparations. *Oncology* **43**, 16-22.
10. Howard, M. K., P. V. Pasquale, A. M. Richard, and G. G. Barbara (1981), Evidence that the insulin-like activities of concanavalin A and insulin are mediated by a common insulin receptor linked effector system. *Biochemistry* **20**, 5800-5809.
11. Lis, H. and N. Sharon (1977), Lectins. Their chemistry and application to immunology, in the antigens. M. Sela Ed.; Academic Press. New York, pp429-529.
12. Peumans, W. J. and E. J. M. Van Damme (1995), Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiol.* **109**, 347-352.
13. Vasconcelos, I. M. and J. T. A. Oliveira (2004), Antinutritional properties of plant lectins. *Toxicon* **44**, 385-403.
14. Gouget, A., V. Senchou, F. Govers, A. Sanson, A. Barre, P. Rougé, R. Pont-Lezica, and H. Canut (2006), Lectin receptor kinases participate in protein-protein interactions to mediate plasma membrane-cell wall adhesions in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **140**, 81-90.
15. Kilpatrick, D. C. (1980), Purification and some properties of a lectin from the fruit juice of the tomato. *Biochem. J.* **185**, 269-272.
16. Bradford, M. M. (1976), A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
17. Takatsy, G. (1955), The use of spiral loops in serological and virological micro-methods. *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.* **3**, 191-197.
18. Williams, D. E. and R. A. Reisfeld (1964), Disc electrophoresis in polyacrylamide gel electrophoresis gels: Extension to new conditions of pH and buffer. *Annal. N. Y. Acad. Sci.* **121**, 373-381.
19. Laemmli, U. K. (1970), Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680-685.
20. Weber, K. and M. Osborn (1969), The reliability of molecular weight determination by dodecyl-sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* **244**, 4406-4412.
21. Gupta, N. and P. S. Srivastava (1998), Purification and characterization of a lectin from seeds and cotyledonary callus of *Zizyphus mauritiana*. *Plant Cell Reports* **17**, 552-556.
22. Zhang, W., W. J. Peumans, A. Barre, C. H. Astoul, P. Rovira, P. Rouge, P. Proost, P. Truffa-Bachi, A. A. H. Jalali, and E. J. M. Van Damme (2000), Isolation and characterization of a jacalin-related mannose-binding lectin from salt-stressed rice (*Oriza sativa*) plants. *Planta* **210**, 970-978.
23. Roh, K. S. and D. J. Lee (2002) Purification and some properties of lectin from *Canavalia ensiformis* L. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **17**, 484-489.
24. Roh, K. S. and N. Y. Park (2005), Characterization of the lectin purified from *Canavalia ensiformis* shoots. *Biotechnol. Bioproc. Engineer.* **10**, 334-340.
25. Lis, H. and N. Sharon (1973), The biochemistry of plant lectins (*Phytohemagglutinins*). *Annu. Rev. Biochem.* **42**, 541-574.
26. Roh, K. S. (2007), Biochemical characterization of lectin purified from kidney bean seedling. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **22**, 53-57.
27. Reynoso-Camacho, R., E. Gonzalez de Mejia, and G. Loarca-Pina (2003), Purification and acute toxicity of a lectin extracted from tepary bean (*Phaseolus acutifolius*). *Food Chem. Toxicol.* **41**, 21-27.
28. Sultan, N. A. M., R. Kenoth, and M. J. Swamy (2004), Purification, physicochemical characterization, saccharide specificity, and chemical modification of a Gal/GalNAc specific lectin from the seeds of *Trichosanthes dioica*. *Arch. Biochem. Biophys.* **432**, 212-221.

29. Wong, J. H., C. C. T. Wong, and T. B. Ng (2006), Purification and characterization of a galactose-specific lectin with mitogenic activity from pinto beans. *Biochim. Biophys. Acta* **1760**, 808-813.
30. Roh, K. S. (2008), Biochemical properties of locular fluid lectin of tomato. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **23**, 48-53.
31. Chang, C. S., M. J. Oh, and K. S. Roh (1999), Purification and biochemical characterization of lectin from *Viscum album*. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **14**, 578-584.
32. Lis, H. and N. Sharon (1981), Lectin in higher plant. *Biochemistry of plant*. Academic Press, pp371-477.
33. Dhuna, V., J. S. Bains, S. S. Kamboj, J. S. Shanmugavel, and A. K. Saxena (2005), Purification and characterization of a lectin *Arisaema tortuosum* Schott having *in-vitro* anticancer activity against human cancer cell lines. *J. Biochem. Mol. Biology* **38**, 526-532.
34. Kim, H. S., S. Y. Son, S. Y. Hwang, and B. S. Hong (1999), Purification and characterization of the lectins from mushroom *Flammulina velutipes*. *J. Kor. Soc. Agric. Chem.* **42**, 304-309.
35. Park, N. Y., S. P. Lee, and K. S. Roh (2007), Biochemical characterization of lectin isolated from cherry tomato fruit. *J. Life Science* **17**, 254-259.
36. Higuchi, M. and K. Iwai (1985), Purification and some properties of the basic lectin from winged bean seeds. *Agr. Biol. Chem.* **49**, 391-398.
37. Olsnes, S., F. Stirpe, K. Sandvig, and A. Phil (1982), Isolation and characterization of viscumin, a toxic lectin from *Viscum album* L. (Mistletoe). *J. Biol. Chem.* **257**, 13263-13270.
38. Roh, K. S. (2008), Biochemical properties of eggplant fruit lectin. *Kor. J. Life Science* **18**, 350-356.
39. Kuku, A. and O. B. Eretan (2004), Purification and partial characterization of a lectin from the fresh leaves of *Kalanchoecrenata* (Andr.) Haw. *J. Biochem. Mol. Biol.* **37**, 229-233.
40. Kalsi, G., H. R. Das, C. R. Babu, and R. H. Das (1992), Isolation and characterization of a lectin from peanut roots. *Biochem. Biophys. Acta* **1117**, 114-119.