

大豆(*Glycine max* L.)의 렉틴 分離 및 特性

朴元穆* · 李鎔世* · 朴相鎬* · 金聖桓* · 尹慶恩**

Isolation and Characterization of Lectin in Soybean(*Glycine max* L.)

Won Mok Park*, Yong Se Lee*, Sang Ho Park*, Seong Hwan Kim* and Kyung Eun Yoon**

ABSTRACT

This experiment was carried out to investigate the lectin of soybean (*Glycine max* L.) seed. Purification was done by 50-80% ammonium sulfate precipitation, CM-cellulose and Sephadex G-100 column. The purity was ascertained by electrophoresis. The molecular weight of purified lectin was estimated as 132,000. It was composed of three subunits which molecular weight was 45,000. The lectin was identified as glycoprotein by Schiff's reagent staining and Dubois method. The lectin agglutinated erythrocytes of rabbit and human. The amounts of the lectin to agglutinate human erythrocytes differed among the blood types; The blood type A required the least amount, the next was B, O, and AB in order. The agglutination was specifically inhibited by 5 μ g/ml of N-acetyl-D-galactoseamine and 200 μ g/ml of D-galactose. Other tested sugars could not inhibit the agglutination of the erythrocytes by the lectin.

緒 言

植物蛋白質인 렉틴은 高等植物에서 低等植物까지 두루 存在하며 一般으로 赤血球나 그外 몇가지 細胞를 凝集시키는 것으로서 phytohemagglutin 또는 phytoagglutinin 이라고 알려져 왔으며 植物體내에 그 含量이 많은 것으로 볼 때 重要な 機能을 擔當하는 것으로 報告되어졌다. 즉 렉틴은 貯藏物質로서 뿐만 아니라 種子의 休眠, 成熟 및 發芽에도 關여하며 種子內의 物質의 移動에도 作用함이 알려져 왔고 더욱 正確한 生理, 生化學的 役割에 關하여는 研究가 未盡하다.^{10,12,20}

현재까지 植物에서는 약 800여種에서 렉틴이 存在함이 밝혀졌으며 이중에서 많은 부분이 豆科作物에서 밝혀지고 있다.²⁰ 大豆(*Glycine max* L.) 에 關한 렉틴의 研究는 1952年 Liener 와 그의 研究

者에 의해 最初로 밝혀졌으며 지금까지 알려진 바 大豆렉틴은 120,000 dalton의 分子量과 3개의 subunits를 갖고 D-galactose 와 N-acetyl-D-galactoseamine 에 대하여 特異性이 있으며 4.5%의 D-mannose 와 1.5%의 N-acetyl-D-glucoseamine 을 함유하는 糖蛋白質로 되어 있다고 報告되어졌다.^{12,13,14}

특히 렉틴은 寄主-寄生體의 特異性, 즉 植物의 病原菌에 대한 認識現象 및 病抵抗性機作에도 關여하며 豆科作物에서는 뿌리혹박테리아의 認識作用에 關여한다는 報告가 있다.^{3,8,23} 또한 Fountain 과 Yang⁶ 및 Pull 등¹⁹은 렉틴이 大豆와 뿌리혹박테리아와의 symbiosis 에 關여한다고 하였다. Puepke 등¹⁸은 大豆렉틴은 種子 및 幼苗에서도 檢出되었으나 식물이 成長할수록 그 含量은 낮아져 2~3주 후에는 식물체에서 렉틴이 檢出되지 않는다고 하였다.

*高麗大學校 農科大學 (College of Agriculture, Korea University, Seoul 136-701, Korea)

**서울女子大學校 自然科學大學 (College of Natural Science, Seoul Woman's University, Seoul 132-240, Korea)

(¹88. 3. 4. 接受)

따라서 本 實驗은 大豆 芽 品 種에서 лек틴을 分離하여 그 特性을 調查하기 위하여 遂行하였다.

材料 및 方法

本 實驗에 사용한 大豆 (*Glycine max* L.)는 芽 品 種으로서 農 村 振 興 廳 作 物 試 驗 場에서 分 양 받 았 다.

렉틴의 分離는 大豆 種 子 200 g을 500 ml의 0.05 M citrate buffer, pH 5.0 (0.15 M NaCl)에 浸 漬 하여 overnight 시킨 후 4°C에서 마 쇄 하여 동 일 buffer를 添 加 하여 1,000 ml로 만 들 었 다. 이 를 수 겹 의 가 체 로 거 른 후 濾 過 液 을 12,000 g로 20 分 間 高 速 冷 凍 遠 心 分 離 하여 그 상 등 액 을 취 하 였 다. 이 령 계 얻 은 crude extract에 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 가 하 여 50%로 포 화 침 전 시 켜 4°C에서 12,000 g로 20 分 간 遠 心 分 離 하여 그 상 등 액 을 취 하 여 다시 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 추 가 하여 80%로 포 화 침 전 시 킨 후 前 과 同 一 한 方 法 으 로 遠 心 分 離 하여 상 등 액 은 버 리 고 침 전 물 을 얻 어 0.1 M citrate buffer, pH 3.0 (1.0 M NaCl)에 녹 였 다. 이 령 계 얻 은 50~80% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 의 포 화 蛋 白 質 을 증 류 수 와 0.1 M citrate buffer, pH 3.0에 48시간 동 안 透 析 시 켰 다. 上 記 蛋 白 質 을 0.1 M citrate buffer, pH 4.0으로 미 리 평 형 시 켜 둔 carboxymethyl cellulose column (3.1 × 40 cm)에 넣 어 같 은 buffer로 세 척 시 킨 후 증 류 수 에서 1.0 M NaCl로 linear gradient로 流 出 시 켰 다. 流 出 速 度 는 시 간 당 15 ml이 었 고 fraction collector를 사 용 하 여 tube 當 5 ml씩 취 하 였 다. 이 들 fraction은 U. V. spectrophotometer로 280 nm에서 吸 光 度 를 측 정 하여 蛋 白 質 含 量 을 관 찰 하 였 고 赤 血 球 凝 集 反 應 을 통 하 여 렉 틴 分 割 을 確 認 하 였 다. Ion-exchange chromatography를 거 친 蛋 白 質 fraction 中 에서 赤 血 球 凝 集 反 應 力 가 높 은 peak를 모 아 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 로 포 화 침 전 시 켜 蛋 白 質 을 농 축 하 였 다. 이 를 0.05 M citrate buffer, pH 5.0 (0.15 M NaCl)로 미 리 평 형 시 켜 둔 Sephadex G-100 column (2.4 × 100 cm)에 넣 어 同 一 buffer로 流 出 시 켰 다. 流 出 速 度 는 시 간 당 10 ml로 하 였 으 며 fraction은 tube 當 2 ml씩 취 하 였 다.

電氣 泳 動 法 은 길이 12 cm, 직 徑 8 mm 짜리 tube gel로 시 2~30% polyacrylamide porosity gradient gel을 사 용 하 였 다. 이 때 gel buffer는 0.25 M Tris-HCl buffer, pH 8.9를 사 용 하 였 고 tray buffer는 0.05 M Tris-glycine buffer, pH 8.3을

1:4로 희 석 하여 사 용 하 였 다. 처음 100 V에서 1시간 泳 動 시 킨 후 200 V로 하 여 15시간 泳 動 하 였 다. Sodium dodecyl sulfate (SDS) 電氣 泳 動 의 경 우 는 0.1% sodium dodecyl sulfate를 添 加 한 11% polyacrylamide gel을 사 용 하 였 다. 試 料 에 1%의 2-mercaptoethanol과 1%의 sodium dodecyl sulfate를 添 加 하여 100°C에서 3分間 가 열 하여 사 용 하 였 다. 電氣 泳 動 은 tube 當 2 mA로 5시간 하 였 고 分 子 量 marker protein은 NWS-877 (14,000-70,000 Sigma Co.)을 사 용 하 였 다. 蛋 白 質 發 색 은 1%의 Coomassie Brilliant Blue R250 수 용 액 에 3시간 gel을 침 지 하여 染色 시 켜 으 며 acetic acid: methanol: water = 2:12:18 (v/v/v)의 혼 합 용 액 에 24시간 脱 色 시 킨 후 5% acetic acid에 保 管 하 였 다. 糖 蛋 白 質 은 Schiff's reagent로 染色 하 였 다.⁷⁾

蛋 白 質 定 量 은 Lowry 등¹⁵⁾의 方 法 에 따 라 bovine serum albumin을 표 준 蛋 白 質 로 하 여 測 定 하 였 고 炭 水 化 物 定 量 은 Dubois⁴⁾ 등 의 phenolsulfuric acid 方 法 에 따 라 D-glucose를 표 준 糖 으 로 하 여 測 定 하 였 다.

赤 血 球 의 分 離 는 0.006 M phosphate buffer, pH 7.2 (0.15 M NaCl) 30 ml에 토 키 및 사 람 피 (A, O, B, AB형) 1 ml을 각 각 섞 어 2,000 rpm으로 5분 간 원 심 분 리 하여 상 등 액 은 버 리 고 침 전 된 赤 血 球 를 다시 同 一 한 方 法 으 로 3회 세 척 粹 集 하 였 다. 이 들 赤 血 球 를 동 일 한 buffer로 희 석 하여 spectrophotometer 620 nm에서 吸 光 度 를 1.0으로 調 節 한 현 탁 액 으 로 만 들 어 實 驗 에 사 용 하 였 다. Trypsin 처리 赤 血 球 는 遠 心 分 離 하여 세 척 한 赤 血 球 를 620 nm에서 吸 光 度 2.0으로 맞 춰 trypsin液 (1%)과 赤 血 球 現 탁 액 을 1:9比 率 로 섞 은 후 37°C water bath에서 1시간 反 應 시 킨 후 에 trypsin을 除 去 하 기 위 하 여 이 를 다시 同 一 buffer로 세 척 한 후 2,000 rpm으로 5分 鐘 3회 遠 心 分 離 하 였 다. 이 들 赤 血 球 現 탁 액 은 다시 吸 光 度 를 1.0으로 調 節 하여 현 탁 액 을 만 든 후 實 驗 에 사 용 하 였 다.

赤 血 球 凝 集 反 應 은 토 키 및 사 람 의 赤 血 球 (A, B, O 및 AB形) 현 탁 액 100 μ l와 렉 틴 용 액 100 μ l를 microtiter plate에서 혼 합 한 후, 실 온 에서 1시간 反 應 시 켜 현 미 경 시 야 100X에서 測 定 하 였 다. 糖 에 의 한 赤 血 球 凝 集 阻 害 는 N-acetyl-D-galactoseamine, D-galactose, N-acetyl-D-glucoseamine, D-glucose, D-mannose, N-acetyl-D-mannose

mine, Methyl-D-mannopyranoside, D-fructose, D-tyrosine, sucrose 및 mannitol 을 렉틴 용액에處理하여 赤血球凝集阻害程度를 測定하였다. 응집단위는 현미경 시야에서 赤血球의 凝集이 완전히 이루어질 때의 희석농도를 정하고 이를 μg 당 응집단위로表示하였다.

結 果

1. 렉틴의 分離精製

大豆芽子品種의 種子에서 렉틴의 分離精製過程은 그림 1에 요약된 바와 같다. 50~80% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 포화침전蛋白質을 0.1 M citrate buffer (pH 4.0) 로 미리 평형시켜 둔 양이온교환수지 CM-cellulose column에 注入시켜 1.0 M NaCl 로 linear gradient 로 流出시킨 결과 그림 2와 같이 4개의 peak가 分離되었다. 이들 分割中 흡광도가 높고 赤血球凝集역가가 가장 높은 낮은 염농도(0.25 M) 부

Seed (200g)

Soak in 500ml of 50mM citrate buffer,
pH 5.0

containing 0.15M NaCl (CBS)

↓
Overnight at 4°C

↓
Homogenize with blender

↓
Suspension (made 1 l with CBS)

↓
Stir overnight at 4°C

↓
Centrifuge at 12,000 x g for 20 min.

↓
Supernatant (crude extract)

↓
50-80% Ammonium sulfate fraction

↓
Dialysis against distilled water and CBS

↓
Centrifuge at 12,000 x g for 20 min.

↓
CM-cellulose Ion-exchange chromatography

↓
Pooling the peak A and concentration

↓
Dialysis against distilled water and CBS

↓
Sephadex G-100 gel filtration

Fig. 1. Steps of purification of soybean lectin

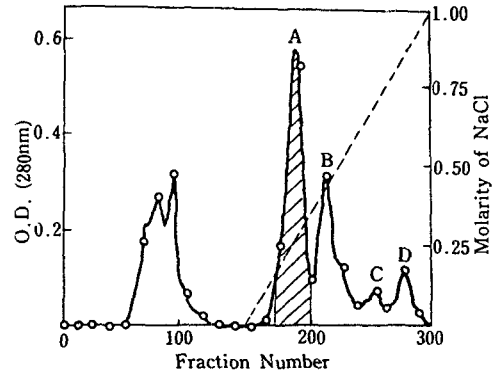


Fig. 2. Chromatography of an ammonium sulfate fraction (50-80%) from soybean seed (cv. Bangsa) on CM-cellulose. A 30 ml sample in 0.1M citrate buffer, pH 3.0 was layered on the column (3.1x40cm) and eluted with 1.0M NaCl gradient. Fractions (5.0 ml each) were collected at 20 ml/hr and assayed for A at 280 nm. Fractions corresponding to A peak showed the specific agglutinating activity against trypsin-treated erythrocytes of rabbit

근의 分割을 수거하였다. 이 分割을 다시 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 로 농축하여 0.05 M citrate buffer, pH 5.0 (0.15 M NaCl) 로 미리 평형시켜 둔 Sephadex G-100 column을 통과시켜 分割한 결과 3개의 peak가 分離되었다(그림 3). 이 分割中 赤血球凝集

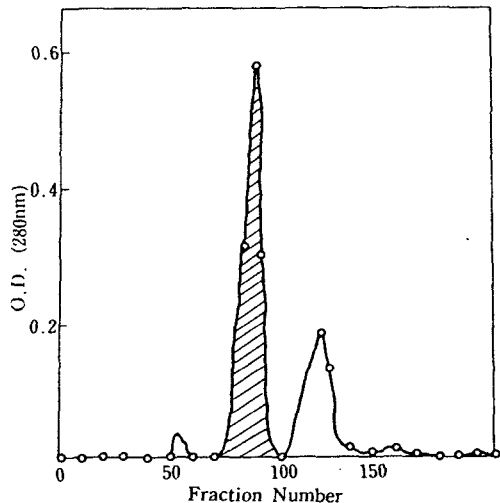


Fig. 3. Gel filtration on a column of Sephadex G-100 (2.4x100cm) of a pooled A peak. The shady area showed the specific agglutinating activity against trypsin-treated erythrocytes of rabbit

Table 1. Minimum amounts of soybean (cv. Bangsa) protein giving hemagglutination with trypsin-treated erythrocyte of rabbit

Fraction	Protein(μ g/ml)
Crude extract	45.0
Protein precipitated at 50-80% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	24.6
A peak at CM-cellulose	8.0
Shady fraction of gel filtration	2.5

도가 높은 75~90 fraction을 수거하였다. 이와같이 하여 얻은 각각의蛋白質들은 trypsin을處理한 토끼赤血球와 凝集反應을 통해 렉틴의 농도를調査하였다. 즉 토끼피의赤血球를 凝集시키는데 필요한蛋白質량은 crude extract는 ml當 45 μ g, 50~80% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 로 포화침전시킨 crude 렉틴은 24.6 μ g으로 나타났고 gel filtration을 거친 렉틴은 2.5 μ g이었다. 이는 crude蛋白質에 비하면 약 18배의 역가가 증가하였다(표 1).

2. 電氣泳動法에 의한 렉틴의 確認

2~30% polyacrylamide gradient gel을 사용하여 렉틴의 分離와 純度を 檢定하였다. 各 분리과정에서의蛋白質의 혼합여부를 나타내는 band의 수는 그림 4와 같다. 즉 crude extract는 264,000

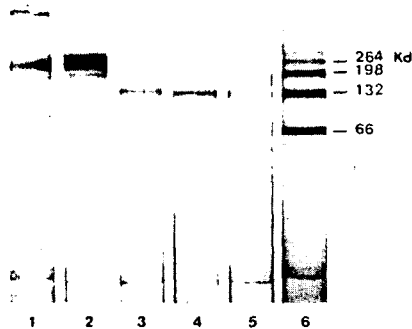


Fig. 4. Protein bands on polyacrylamide gradient (2-30%) gel after electrophoresis of soybean (cv. Bangsa) extracts, soybean lectin, and bovine serum albumin. Electrophoresis was carried out in Tris-glycine buffer, pH 8.3 for 16 hrs at 200V. 1: Crude extract, 2: Proteins precipitated by 50 to 80% solution of ammonium sulfate, 3: "A" peak of CMC fraction, 4: Shady peak of gel filtration, 5: Soybean lectin(Sigma Co.), 6: MW marker protein

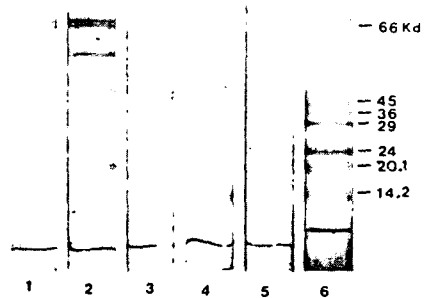


Fig. 5. Protein bands on polyacrylamide(11.0%) SDS gel after electrophoresis of soybean (Bangsa cv.) extract, soybean lectin, and MW marker protein. Electrophoresis was carried out in Tris-glycine buffer, pH 8.3 for 5 hrs at 2 mA/tube. 1: Crude extract, 2: Proteins precipitated by 50 to 80% solution of ammonium sulfate, 3: "A" peak of CMC fraction, 4: Shady peak of gel filtration, 5: Soybean lectin (Sigma Co.), 6: MW marker protein

dalton부터 66,000 dalton 이하까지 여러개의 band가 나타났고 50~80% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 포화침전蛋白質은 crude extract와 그 band pattern이 비슷하나 분자량이 큰 부근의 band가 더 진하였다. CM-cellulose column을 통해 分割한 peak에서는 2개 band만 보임으로서 많은蛋白質이 제거되었고 gel filtration을 통해 얻은 分割에서 분자량이 132,000 dalton인 단일 band를 確認하였다. 이는 Sigma Co.에서 구입한 soybean lectin과 동일한 band 위치를 보여 완전히 精製되었음을 나타냈다. 또한 단일 band는 Schiff's reagent로 染色되었다. 이를 다시 SDS-electrophoresis하여 본 결과 分離한 렉틴은 분자량이 45,000 dalton인 3개의 subunit로 되어 있음을 나타냈다(그림 5).

3. 렉틴의 赤血球凝集 및 糖類의 凝集阻害效果

Trypsin을 處理한 赤血球凝集反應에서 소요되는 렉틴의 양은 토끼赤血球가 1ml當 2.5 μ g으로서 가장 적었고 사람의 赤血球에 대해서는 렉틴의 양이 많이 요구되었다. A型이 1ml當 5.4 μ g으로 가장 적게 요구되었고 다른 血液型은 더욱 많이 요구되어 토끼피 > A > B > O > AB형의 順序로 본 렉틴에 대한 凝集反應이 잘 일어났다(표 2). 이들 赤血球凝集反應의 현미경 관찰결과를 그림 6과 같다. 糖類의 赤血球凝集阻害效果는 N-acetyl-D-galacto-

Table 2. Minimum concentration of purified soybean (cv. Bangsa) lectin giving hemagglutination with trypsinized erythrocytes of human and rabbit

Erythrocyte type	Minimum concentration of lectin (μ g/ml)
A	5.4
B	6.2
AB	6.8
O	6.5
Rabbit	2.5

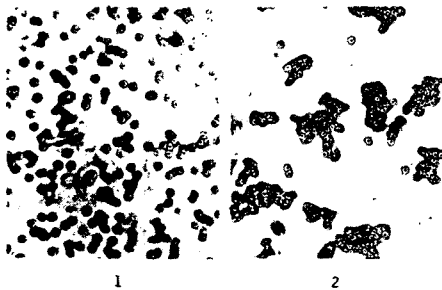


Fig. 6. Agglutination of trypsin-treated erythrocytes of rabbit by purified soybean (cv. Bangsa) lectin after 1 hour incubation at 27°C

1: Control, 2: Hemagglutination

Table 3. The amount of sugars for inhibition of hemagglutination by the purified lectin from soybean seed (cv. Bangsa)*

Sugars	Minimum amounts inhibiting hemagglutination (μ g/ml)
N-acetyl-D-galactoseamine	5.0
D-galactose	200.0
N-acetyl-D-glucoseamine	No inhibition**
D-glucose	No inhibition**
N-acetyl-D-mannoseamine	No inhibition**
D-mannose	No inhibition**
Methyl-D-mannopyranoside	No inhibition**
D-fructose	No inhibition**
D-tyrosin	No inhibition**
Sucrose	No inhibition**
Mannitol	No inhibition**

*The concentration of lectin was 50 μ g/ml

**No inhibition was shown up to 1mg/ml

seamine 이 1m當 5 μ g 으로서 特異的인 阻害를 가장 잘 나타냈고 D-galactose가 200 μ g 으로 凝集阻害效果를 나타냈다. 그외 D-glucose 등 8종의 糖은 赤血球凝集阻害效果가 없었다(표 3).

考 察

大豆 種子에서의 렉틴의 分離에는 이온교환수지 및 affinity chromatography 등이 사용되어 왔는데^{1,17)} 本 實驗에서는 CM-cellulose exchange chromatography와 gel filtration을 사용하여 赤血球凝集을 일으키는 렉틴을 分離하였다. Fett와 Sequeira는⁵⁾ CM-cellulose에 의해 細菌을 응집시키는 phytoagglutinin을 分離할 수 있었으나 DEAE-sephadex로는 할 수 없다고 하였고 Lis등¹⁹⁾은 DEAE-cellulose에 의해 3종의 hemagglutinin을 분리하였다. Fountain과 Yang⁶⁾도 같은 결과를 보고한 바 있다. 實驗을 통해 나타난 50~80% (NH₄)₂SO₄ 포화침전蛋白質인 렉틴은 pH 4.0인 CM-cellulose 吸着되는 것으로 볼 때 basic蛋白質임을 알 수 있었다. 렉틴分離過程中 0~50% (NH₄)₂SO₄ 포화침전蛋白質은 Fett와 Sequeira의 보고⁵⁾와 같이 세균(*Rhizobium* spp.)은 凝集하였으나 赤血球는 凝集하지 않았다.

Lowry 등¹⁵⁾의 方法에 의하여 蛋白質이 檢出되고 Dubois 등⁴⁾의 方法에 의하여 糖이 存在함이 밝혀진 바 本 렉틴은 糖蛋白質임을 알 수 있었고 65% homogeneous gel 전기영동 후 Schiff's reagent에 의하여 단일 band가 확인되어 大豆렉틴이 糖蛋白質이라는 報告¹²⁾와 일치한다. Gradient gel 電氣泳動에 의하면 50~80%의 crude extract로부터 CM-cellulose 및 gel filtration을 거치는 동안 여러개의 band가 264,000 dalton부터 66,000 dalton 이하까지 나왔으나 CM-cellulose에서는 main band 1개와 minor band 1개를 볼 수 있었고 gel filtration을 통하여 단일 band가 나타남은 렉틴의 分離精製가 잘 되었음을 보여준다 하겠다. 電氣泳動法에 의하여 分離하고자 하는 蛋白質은 電氣泳動의 多樣性에 입각하여 볼 때 그 方法의 選擇이 分析하고자 하는 試料의 特性과 함께 이들의 복합적인 分析이 要求되기도 한다.^{16,22)} 本 實驗에서 gradient gel에 의한 大豆렉틴의 確認은 Sigma 제품의 soybean lectin과 同一한 band를 찾음으로서 지금까지 대부분 렉틴의 分離 및 동정에 사용되는 homogeneous gel보다 그 分離過程 및 純度の 確認이 進歩된 方法이라고 할 수 있겠다. (NH₄)₂SO₄는 농도가 높아질수록 보다 큰 peptide를 침전시키는데 本 실험에서 0~50, 50~80% (NH₄)₂

SO₄ 포화침전蛋白質의 구분이 band pattern 으로 가능함이 보여져 Fett와 Sequeira가 밝힌 phyto-agglutinin도 볼 수 있었다.

Gradient gel 을 사용하여 렉틴의 분자량을 調査한 결과 132,000 dalton으로 나타났는데 이는 지금까지 報告된 120,000 dalton 보다는 10,000정도 더 큰 것으로 나타났다. Lis 등¹³⁾과 Liener 등¹¹⁾은 大豆의 분자량이 120,000 dalton이라 하였고 大豆 D 68~127은 92,000 dalton임을 밝힌 isolectin 의 일부분임을 밝힌 것도 있다.⁶⁾ Lotan 등¹⁴⁾은 gel filtration 方法으로 120,000 ± 10,000 dalton 으로 보고하여 본 실험결과와 일치된 傾向을 보여 주었다.

SDS gel 에 의한 subunit 의 수는 4 개^{10,11)} 및 3 개¹⁴⁾로 보고되어 왔으나 방사品種의 subunit 는 분자량이 45,000 dalton 인 3 개의 subunit 로 구성되어 있음이 관찰되었다.

室溫에서 렉틴과 赤血球와의 응집반응에서는 토끼 피가 가장 잘 일어났고 사람피에서는 A型이 가장 잘 일어남은 Lis 등¹³⁾의 결과와 같았고 凝集은 反應 즉시 혹은 10 분 이내에 일어났다. 렉틴의 적혈구와의 응집은 trypsin 을 처리한 赤血球와 더 잘 일어났는데 이는 receptor 의 노출에 起因된 것으로 분수 있다.

렉틴이 糖과 結合한다는 特異성은 여러 作物¹⁰⁾에서 나타나 있다. 扁豆렉틴은 D-mannose 와 D-glucose 를 결합하며 大豆에서는 N-acetyl-D-galactoseamine 과 D-galactose 를 결합시킨다고 알려져 왔다.^{12,13)} 방사종의 렉틴도 N-acetyl-D-galactoseamine 과 D-galactose 를 결합함이 관찰되어 위의 보고와 일치하였다.

이상의 結果에서 50~80% (NH₄)₂SO₄ 포화침전蛋白質에서 赤血球를 응집하는 렉틴이 存在함을 밝혔으며 이의 生理的 機作과 면역화학적 研究가 行하여져야 된다고 생각된다.

摘 要

本 實驗은 大豆(*Glycine max* L.) 방사品種의 種子蛋白質에서 렉틴을 分離하여 그 特性을 調査하기 위하여 遂行되었다.

렉틴의 分離方法은 (NH₄)₂SO₄ 의 50~80% 飽和沈澱蛋白質을 Carboxymethyl cellulose column 과 Sephadex G 100 column 을 거쳐서 分離, 精製

되었다. 純度의 檢定은 2~30% polyacrylamide porosity gradient gel 을 사용한 電氣泳動法으로 단일 band 를 確認하였고 또한 분자량은 11% sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel 에 의하여 134,000 dalton임을 推定하였으며 45,000 dalton 의 3개의 subunits 로 構成되어 있음을 알았다. Schiff reagent 에 의하여 분홍色 反應을 일으켰으므로 이것은 糖蛋白質임을 알 수 있었다. 本 糖蛋白質은 토끼와 사람의 赤血球 모두에서 赤血球凝集 反應이 일어났으며 사람의 血液型에서 赤血球凝集 程度는 A>B>O>AB型的 순서로 凝集이 잘 일어났다. 糖類에 의한 赤血球凝集阻害는 N-acetyl-D-galactoseamine 과 D-galactose 에 의하여 일어났다.

參 考 文 獻

1. Bhuvaneswari, T.V., S.G. Pueppke and W. D. Bauer. 1977. The role of lectins in plant-microorganism interactions. 1. Binding of soybean lectin to *Rizobia*. *Plant Physiol.* 60 : 486-491.
2. Bohlool, B.B. and E.L. Schmidt. 1974. Lectins: A possible basis for specificity in the *Rhizobium-legume* root nodule symbiosis. *Science* 185 : 269-271.
3. Daly, J.M. 1984. The role of recognition in plant disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 22 : 273.
4. Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28 : 350-356.
5. Fett, W.F. and L. Sequeira. 1980. A new bacterial agglutinin from soybean. 1. Isolation, partial purification and characterization. *Plant Physiol.* 66 : 847-852.
6. Fountain, D.W. and W.K. Yang. 1977. Isolectins from soybean (*Glycine max*). *Biochim. Biophys. Acta* 492 : 176-185.
7. Kim, S.H. 1987. Electrophoresis and immunological studies on the antigenic relationships in host-parasite systems of *Capsicum annuum* L. and *Colletotrichum* spp.. MS thesis, Korea

- University.
8. Kojima, N. and I. Uritani. 1974. The possible involvement of a spore agglutinating factor in various plants in establishing host specificity by various strains of black rot fungus, *Ceratocystis fimbriata*. *Plant Cell Physiol.* 15 : 733-737.
 9. Liener, I.E. 1955. The photometric determination of the hemagglutinating activity of soyin and soybean extracts. *Arch Biochem. Biophys.* 54 : 223-231.
 10. _____ 1976. Phytoagglutinins (Phytolectins). *Annu. Rev. Plant Physiol.* 27 : 291-319.
 11. _____ and M.J. Pallansch. 1952. Purification of a toxic substance from defatted soybean flour. *J. Biol. Chem.* 197 : 29-36.
 12. Lis, H. and N. Scharon. 1973. The biochemistry of plant lectins (Phytohemagglutinins). *Annu. Rev. Biochem.* 42 : 541-574.
 13. _____ and E. Katchalski. 1966. Soybean hemagglutinin, a plant glycoprotein. I. Isolation of a glycopeptide. *J. Biol. Chem.* 241 : 684-689.
 14. Lotan, R., H.W. Siegelmann, H. Lis and N. Scharon. 1974. Subunit structure of soybean agglutinin. *J. Biol. Chem.* 249 : 1219.
 15. Lowry, O.H., N.L. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265-275.
 16. Park, W.M. and H. Stegemann. 1979. Rice protein patterns. Comparison by various PAGE-Techniques in slab gel. *Z. Acker- und Pflanzenbau.* 148 : 446-454.
 17. Partridge, J., L. Schannon and D. Gumpf. 1976. A barely lectin that binds free amino sugars. I. Purification and characterization. *Biochim. Biophys. Acta* 451 : 470-482.
 18. Pueppke, S.G., W.D. Bauer, K. Keehstra and A.L. Ferguson. 1978. Role of lectins in plant-microorganisms interactions. II. Distribution of soybean lectin in tissues of *Glycine max* (L.). *Merr. Plant Physiol.* 61 : 779-784.
 19. Pull, S.P., S.G. Pueppke, T. Hymowitz and J.H. Orf. 1978. Soybean lines lacking the 120,000 dalton seed lectin. *Science* 200 : 1277-1279.
 20. Scharon, N. and L. Halina. 1972. Lectins : Cell agglutinating and sugar-specific proteins. *Science* 177 : 949-959.
 21. Stacey, G., A.S. Paa and W.J. Brill. 1980. Host recognition in the *Rhizobium*-soybean symbiosis. *Plant Physiol.* 66 : 609-614.
 22. Stegemann, H., W. Burgermeister, H. Francksen and E. Krogerrecklenfort. 1985. In gel electrophoresis and isoelectricfocusing, Chapter 3. Standard electrophoresis (PAGE). Institut fur Biochemie, Biologische Bundesanstalt, Messeweg 11, D-3300 Braunschweig, West Germany.
 23. Takahashi, T. and N. Doke. 1984. A role of extracellular polysaccharides of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* in bacterial adhesion to citrus leaf tissues in preinfectious stage. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 50 : 565-573.