

## 해양동물 눈알고둥으로부터 새로운 렉틴 성분의 분리 및 정제

소명숙 · 서영아 · 진경희\* · 정시련#

영남대학교 부설 약품개발연구소

영남대학교 약학대학, \*이과대학

(Received May 1, 1992)

### Purification and Characterization of A New Lectin from Marine Animal *Lunella coronata coreensis*

Myung Suk So, Young Ah Suh, Kyung Hee Jeune\* and See Ryun Chung#

Institute for Drug Research, Yeungnam University

College of Pharmacy and \*College of Science, Yeungnam University, Gyongsan 712-749, Korea

**Abstract**—The whole body extract of *Lunella coronata coreensis* agglutinated nonspecifically human and other animal erythrocytes. A new lectin was purified by the following procedures: 0.15 M NaCl extraction, salt fractionation, gel filtration, anionic and cationic ion exchange column chromatographies. Through these purification procedures, specific activity of LCC-I was increased from 276 to 9714.3 units/mg. And on polyacrylamide gel electrophoresis, LCC-I exhibited one major band. A molecular weight of LCC-I was assumed to be 20,000 by sodium dodesyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. The purified lectin was relatively stable at various pH and heat. Among the tested sugars, lactose and lactulose inhibited lectin activity at a concentration of 6.25 mM, respectively.

**Keywords** □ Lectin, hemagglutinins, *Lunella coronata coreensis*, molecular weight.

1888년 Stillmark가 피마자(*Ricinus communis*)의 추출물이 적혈구를 응집시킨다는 사실을 발견한 이래<sup>1)</sup> lectin은 식물계 뿐 아니라, 미생물계, 무척추동물, 수종의 물고기와 같은 하등척추동물 등 자연계에 널리 분포되어 있으며, 생체내에서는 soluble lectin과 membrane bound lectin으로 존재하며,<sup>2,3)</sup> 명확한 생리적 기능은 밝혀지지 않았지만 영양물질의 수송, 저장기능 및 생체방어수단의 기능물질로서 개체마다 다양한 역할을 하는 것으로 알려지고 있다.<sup>4-7)</sup> Lectin은 분자량, subunit, 당 특이성 등 생물학적, 물리화학적, 면역학적 성질이 다양하며 여러가지 생리활성을 가진

것으로 보고되고 있으며 대표적인 생리활성으로는, lymphocyte 자극분열 효과,<sup>8-10)</sup> anti-tumor 효과,<sup>11,12)</sup> insulin-like 효과<sup>13,14)</sup> 등이 있다.

이러한 다양한 lectin의 생물 물리화학적 특성은 lectin이 당과 특이적으로 결합하며, 적어도 2개 이상의 당과의 결합부위를 가지고 있다는 성질에 기인하며, 이와 같은 성질을 이용하여 당화합물 분리 및 구조 연구, 세포막연구, 세포분리, microorganism의 확인, blood typing, drug carrier, immune disease 및 cancer 실험 등에 이용되고 있으며 임상적 응용까지 시도되고 있다.<sup>15-18)</sup>

이렇듯 생리활성이 독특한 성분인 lectin은 대부분 육상식물, 그중에서도 콩과(Leguminosae) 식물에서 주로 연구되어 왔으나, 미생물, 척추동물을 대상으로

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

한 연구도 상당수 이르고 있으며 국내에서 렉틴(lectin)에 관한 연구는 1975년부터 Chung 등의 본 연구진이 15여년 동안 각종 천연물(식물, 동물 특히 해양동물 그리고 고등균류)로부터 이 독특한 생리활성 성분의 검색, 분리, 정제 및 생물물리 화학적 특성 등을 규명한 바 있다.<sup>19-22)</sup>

본 연구에서는 제주도 해안에 풍부하게 서식하고 있는 눈알고둥(*Lunella coronata coreensis*)으로부터 새로운 렉틴을 분리, 정제하고 이들의 생물 물리 화학적 특성을 알아보았다.

## 실험방법

### 실험재료

소라과(Turbinidae)에 속하는 눈알고둥(*Lunella coronata coreensis* RECLUZ)을 제주도 서귀포 해안에서 직접 채취하여 실험재료로 사용하였다.

### 시약

Sephadex G-75는 Pharmacia Fine Chemicals(Uppsala, Sweden)에서 DEAE-Cellulose 52, CM-Cellulose 52는 Whatman Inc.(Clifton, NJ, USA)에서, Tris(Tris-hydroxymethylaminoethane), bovine serum albumin과 carbonic anhydrase는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO., USA)에서 Cytochrome C, Chymotrypsinogen A, Albumin from hen egg 등의 standard protein은 Combithek® Boehringer Mannheim Biochemica에서, Trypsin, N-acetylgalactosamine, L-glucose, D-galactose, lactose, lactulose 등 40여종의 당은 Wako, Hayashi, Nakarai, Junsei, Katayama, Fluka, Dojin 등의 특급시약을, 기타 일반시약은 시중에서 구입한 특급 내지 일반시약을 사용하였다.

### 기기

본 연구에 사용된 주된 기기는 다음과 같다.

High speed centrifuge : Hitachi(Hitachi koki Co. Ltd., Japan), Fraction collector : ISCO(Lincoln, USA), Spectrophotometer : Hitachi Model 200~20(Japan), Freeze-dryer system : Labconco LYPH-LOCK® 77530(USA), Electrophoresis apparatus : SJ-1051(ATTO Co., Japan), Mighty Small II SE 250(Hoefel Scientific Instruments, San Francisco)

### 렉틴의 분리 및 정제

살아 있거나  $-70^{\circ}\text{C}$ 로 deep freeze 되어있던 눈알

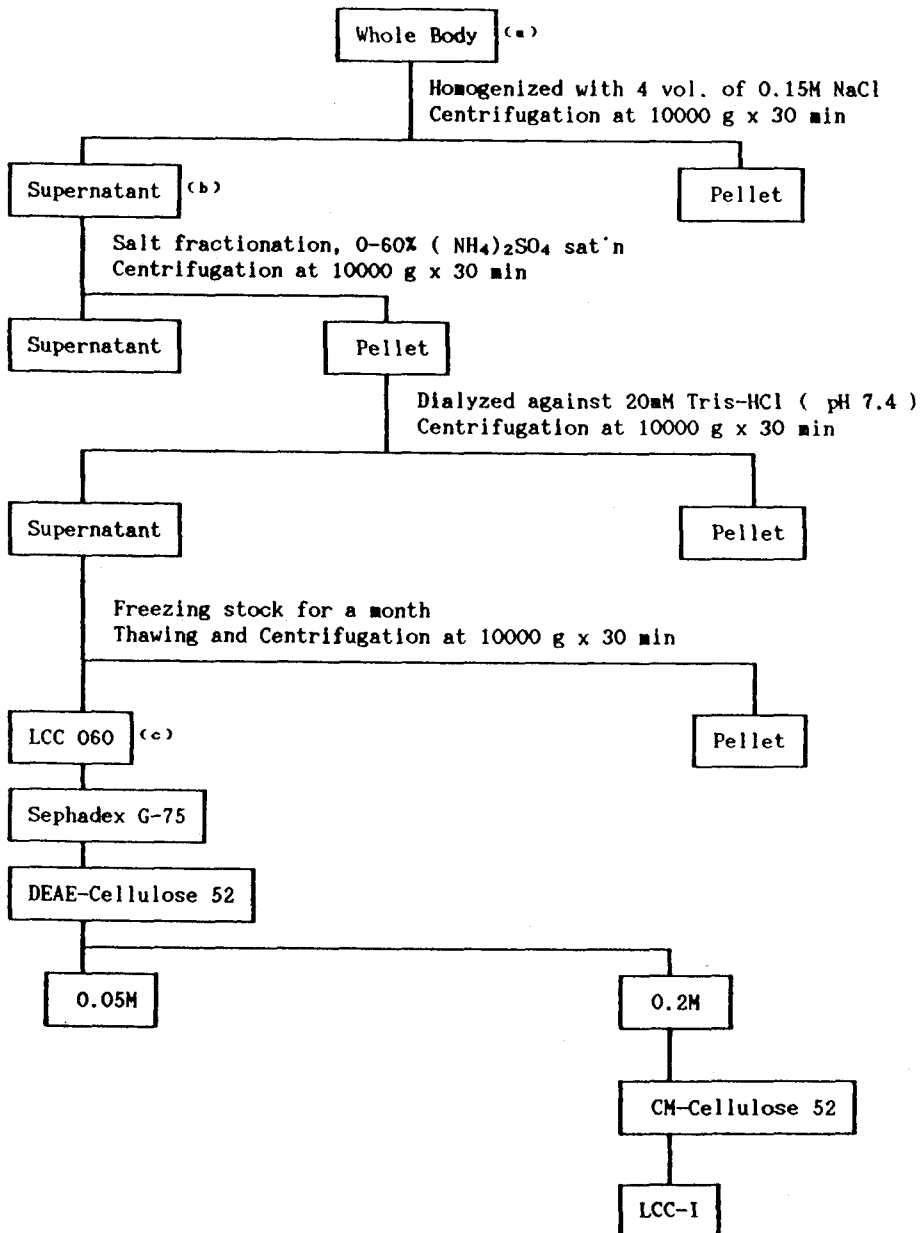
고둥의 근육조직을 0.15 M NaCl로 추출하여 원심분리한 상층액을 crude extract로 하였다. Crude extract를 ammonium sulfate 0~60% 포화, 분리, 침전시킨 다음 원심분리하여 얻은 pellet을 투석시켜 이를  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 1개월 이상 저장한 후, column 정제전에 녹여서 10,000×g에서 30분간 원심분리하여 점액성 물질은 제거한 후, 이를 crude lectins(LCC 060)으로 하여, Scheme 1과 같이 행하였다. 이때 투석에 사용된 seamless cellulose tube(Visking Co.)는 1 mM EDTA 및 100 mM sodium bicarbonate를 함유한 용액에 끓여 활성화시킨 후 50% ethanol에 저장시켜둔 것을 사용하였다.

### LCC-I 렉틴의 정제

**Sephadex G-75 column chromatography(pH 7.4)**  
—Crude lectins(LCC, *Lunella coronata coreensis*)을 Chung 등<sup>21)</sup>의 방법에 따라 20 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4)로 미리 평형시켜둔 Sephadex G-75 column (26×40 cm)에 crude lectin을 주입하고 같은 buffer로 gel filtration을 실시하였다. 이때 단백질 성분은 280 nm에서 흡광도를 측정하여 확인하였으며, 각 fraction의 lectin 활성은 사람 B형 적혈구 응집반응으로 확인하였다. 이상의 정제과정마다 렉틴의 적혈구 응집력(렉틴활성)은 microtiter plate(Nunc Co.)에 시료 50 μl를 2배수 희석한 후 사람의 B형 적혈구를 3% 용액으로 만들어 사용하였다. Lectin 활성을 나타낸 분획은 Amicon Pressure Cell and Diaflo Ultrafilters PM 10(Cut off : 10,000 Dalton, Amicon, Corp)과 Freeze Dryer로 농축하였다.

**DEAE-Cellulose(DE52) column chromatography**  
—전항에서 lectin 활성을 나타낸 fraction을 20 mM Tris-HCl buffer(pH 7.4)로 미리 평형시켜둔 DEAE-Cellulose 52 column chromatography(2.6×40 cm)에 주입시켜 단백질 성분을 step-wise salt gradient 방법으로 분리한 후 전항과 동일한 방법으로 확인, 농축시켰다.

**CM-Cellulose(CM52) column chromatography**  
—DEAE-cellulose 52 column chromatography에서 lectin 활성을 나타낸 시료중 0.2 M fraction을 10 mM phosphate buffer(pH 6.8)에 투석시키고, 같은 buffer로 미리 평형시켜둔 CM-cellulose 52 column(2.6×28 cm)에 주입시켜 분리정제 후 전항과 동일한 방법으로 확인 농축하였다.



Scheme 1—The purification procedure of the LCC lectins

(a) *Lunella coronata coreensis*, a marine shellfish, meat, (b) crude LCC extract, (c) crude LCC lectins

**Polyacrylamide Gel Electrophoresis(PAGE)에 의한 순도 검정**—PAGE는 Davis<sup>23)</sup>의 방법으로 pH 8.3에서 7.5% polyacrylamide gel로 실시하였으며, 이때 전류는 stacking gel에서는 1 mA/tube로, separating gel에서는 4 mA/tube로 하였다. Tracking dye는 0.001

% bromphenol blue를 사용하였으며, 단백질 부위는 0.1% coomassie brilliant blue R-250 solution(95% ethanol containing 0.25% coomassie brilliant blue R-250 : 10% acetic acid=1 : 1)으로 고정시켜 염색하였다.

**렉틴활성에 미치는 pH, 온도의 영향**—Chung 등의 방법으로 LCC-I lectin을 pH 1.99~10.71 사이의 여러가지 buffer(4°C)에서 24 hr 투석시킨 후 남아 있는 lectin 활성을 조사하였다.

이때 사용한 buffer는 25 mM KCl-HCl(pH 1.99), 25 mM Glycine-HCl(pH 3.18), 25 mM Citrate(pH 4.22), 25 mM phosphate(pH 6.54), 25 mM Tris-HCl (pH 7.40), 25 mM Tris-HCl(pH 8.0), 25 mM Carbonate(pH 9.32), 25 mM Carbonate buffer(pH 10.71)였다.

또한 LCC-I 렉틴을 10~90°C 범위의 온도에서 30 분간 incubation 시킨 후, 즉시 얼음으로 식힌 다음 남아있는 lectin 활성을 조사하였다.

**렉틴의 당 특이성**—당에 의한 적혈구 응집력 저해 효과는 Ravindranath<sup>24)</sup> 등의 방법을 응용하여 4HU (hemagglutination unit)의 응집력을 나타내는 LCC-I lectins 용액으로 실시하였다.

즉, 44종의 당용액(100 mM, 33 μ)을 microtiter plate에서 serial two-fold dilution한 후, 각 well에 4 HU의 응집력을 나타내는 lectin 용액(33 μ)을 가하고 다시 3% 적혈구 용액(33 μ)을 가하는 방법으로 수행하였다. 당에 의한 적혈구 응집력 저해효과는 4HU 적혈구 응집력을 완전히 저해할 수 있는 최소한의 당 농도로 표시하였다.

**단백질 함량 분석**—Bovine serum albumin을 표준품으로 하여 Lowry<sup>25)</sup> 등의 방법으로 단백질 함량을 분석하였다.

**SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis에 의한 분자량 측정**—SDS-PAGE는 Laemmli와 King(1971)<sup>26)</sup>의 방법으로 실시하였다. 즉, stacking gel과 separating gel은 각각 5%, 14% polyacrylamide gel로 준비하였고, LCC-I lectin과 standard protein은 SDS와 2-mercaptoethanol을 각각 2%, 2% 가하여 100°C에서 3분간 처리하여 denaturation 시켰다.

Electrophoresis는 stacking gel에서는 20 mA/slab, separating gel에서는 40 mA/slab의 전류로 2시간 동안 실시하였고 tracking dye와 염색은 PAGE와 같이 하였다. Standard protein으로는 : Cytochrome C(12,500), Chymotrypsinogen A(25,000), Carbonic anhydrase(29,000), Albumin from hen egg(45,000), Albumin from bovine serum(68,000)을 사용하였다.

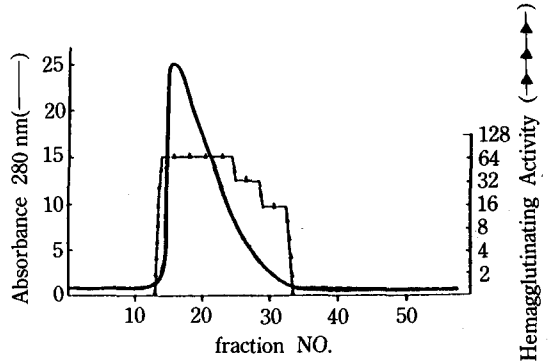


Fig. 1—Elution profiles of *Lunella coronata coreensis* 060 on Sephadex G-75 column. column; 2.6×40 cm; flow rate; 14.4 ml/hr.

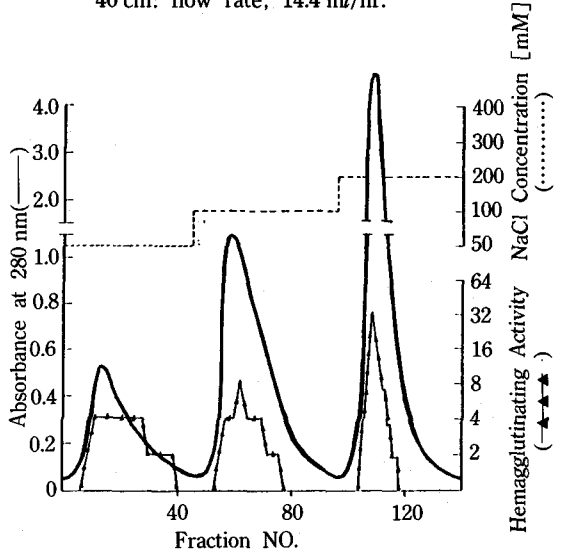


Fig. 2—Elution profiles of Sephadex G-75 column on DE 52 anion exchange column. column; 2.6×40 cm; flow rate; 24 ml/hr.

**실험결과 및 고찰**

Crude lectin을 Sephadex G-75로 gel filtration하여 Fig.1과 같은 결과를 얻었다.

20 mM Tris-HCl buffer(pH 7.4)로 유출시켰을 때, 색소 및 접액성 물질은 제거되었고 렉틴활성이 있는 분획은 수집, 농축하였다. 농축시킨 시료를 anion exchanger인 DEAE-Cellulose 52 column(pH 7.4)으로 chromatography하여, Fig.2와 같은 결과를 얻었다. 20 mM Tris-HCl buffer(pH 7.4)를 NaCl gradient로 유출시켰을 때, 0.05 M, 0.1 M, 0.2 M 분획에서 렉틴 활성이 나타났다. 이들중 활성이 강하게 나타난 0.2 M

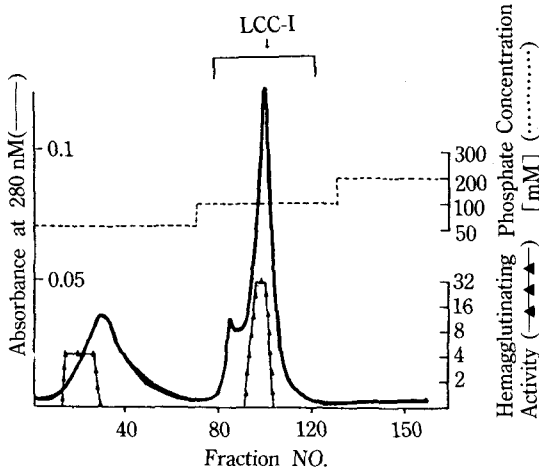


Fig. 3—Elution profiles of 0.2 M fraction from DE 52 anion exchange column on CM 52 cation exchange column; 2.6×28 cm; flow rate; 24 ml/hr.

분획을 수집, 농축한 후 cation exchanger인 CM-Cellose 52 column으로 더욱 정제하여 Fig. 3과 같은 결과를 얻었다.

즉, 10 mM phosphate buffer(pH 6.5)에서 NaCl gradient로 유출시켰을 때 0.05 M, 0.1 M 분획에서 렉틴 활성이 나타났다. 그러나 0.1 M 분획이 활성이 높았고 전기영동결과 단일 band로 확인되기에, 이를 LCC-I이라 하였다.

**정제도 및 회수율**—Crude extract를 기준으로 렉틴의 정제도와 회수율을 검토한 바, Table I과 같은 결과로 나타났다. Extract로부터 추출된 crude lectin (LCC 060)은 1.7배 정제되었고, 94.5% 회수되었으며, LCC 060을 Sephadex G-75로 Gel filtration시킨 분획은 1.8배 정제되었고 94.3% 회수되었다.

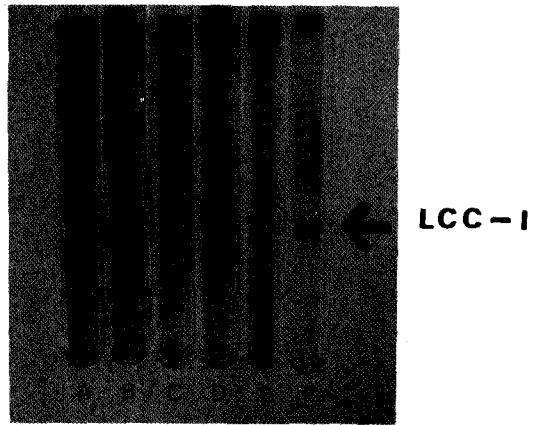


Fig. 4—Polyacrylamide disc gel electrophoresis patterns of LCC lectins.

Electrophoresis was carried out in 7.5% polyacrylamide disc gel at pH 8.3.

Lane A: LCC 060, B: Sephadex G-75, C: DE 52 0.05 M, D: DE 52 0.1 M, E: DE 52 0.2 M, F: CM 52 0.1 M

Proteins were stained with 0.1% coomassie brilliant blue R-250 solution.

또한 DEAE-Cellulose 52 column으로 유출시킨 결과 0.2 M 분획은 1.9배 정제되었고, 36.4% 회수되었다. 또 DE52 0.2 M 분획을 CM52에서 정제하여 얻은 0.1 M 분획은 35.2배 정제되고, 0.9% 회수되었다.

**렉틴의 순도검정**—정제단계에서 얻은 LCC 렉틴의 각 분획을 PAGE한 결과는 Fig. 4와 같았다. Crude lectin은 다수의 band를 나타냈으나, 정제단계에 따라 band의 수가 줄어들어 점차 정제되어감을 알 수 있었다. DE52 0.2 M 분획을 정제시켜 CM52 0.1 M 분획인 LCC-I은 one band를 나타냈으므로 균일하다

Table I—Purification of LCC lectins from the whole body of Shellfish<sup>a</sup>

Purification step	Total Protein [mg]	Total units <sup>b</sup> (×10 <sup>-3</sup> )	Specific activity <sup>c</sup> [units/mg]	Purification [fold]	Recovery [%]
Crude LCC Extract	510.2	140.8	276	1.0	100.0
LCC 060	279.9	133.1	475.5	1.7	94.5
Sephadex G-75	264.9	132.8	501.3	1.8	94.3
DEAE-Cellulose 52(0.2 M)	97.12	51.2	527.2	1.9	36.4
CM-Cellulose 52(0.1 M)	0.14	1.36	9714.3	35.2	0.9

<sup>a</sup>LCC 25g, <sup>b</sup>A unit of hemagglutinating activity is defined as the reciprocal of the dilution endpoint, <sup>c</sup>Specific activity corresponds to the value of the unit divided by the amount of protein used in the assay.

**Table II**—Hemagglutination patterns of erythrocytes from different origin by LCC-1 lectin.

Erythrocytes	Titer <sup>-1</sup>	
	Untreated	Trypsinized
Human A	32	64
B	64	256
O	2	4
AB	32	256
Bovine	2	4
Pig	2	2
Rabbit	64	512
Rat	256	1024

**Table III**—Effect of pH on hemagglutinating activity of LCC-1 lectin.

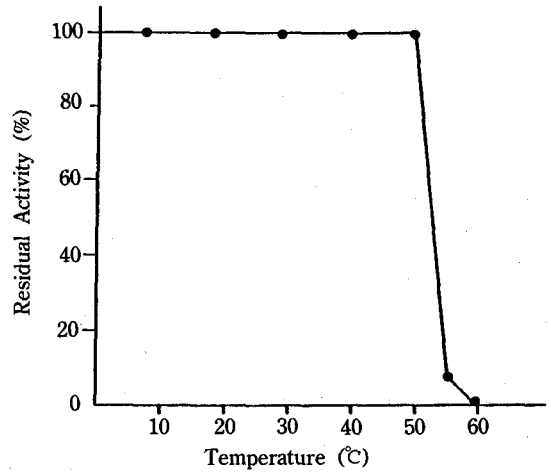
Buffer	pH	Hemagglutinating activity [HU]
25 mM KCl-HCl Buffer	1.99	16
25 mM Glycine-HCl Buffer	3.18	16
25 mM Citrate Buffer	4.22	32
25 mM Citrate Buffer	5.36	32
25 mM Phosphate buffer	6.54	32
25 mM Tris-HCl Buffer	7.40	32
25 mM Tris-HCl Buffer	8.80	32
25 mM Carbonate Buffer	9.32	16
25 mM Carbonate Buffer	10.71	16

고 판정할 수 있었다.

**렉틴활성**—정제된 LCC-I에 대한 사람 및 각종 동물의 적혈구에 대한 렉틴활성도를 조사한 결과는 Table II와 같았다. LCC-I lectin은 사람의 A, B, AB형과 토끼에서는 비교적 강한 응집현상이 나타났고, 사람의 O형, 소, 돼지 등에서는 약한 응집현상이, 흰쥐에서는 아주 강한 응집현상이 나타났다. 또한 trypsin 처리한 적혈구에서는 2배에서 8배까지 활성이 증가되었다.

**pH의 영향**—pH에 따른 렉틴활성은 Table III과 같다. LCC-I lectin의 적혈구 응집력은 pH 3 이하, pH 9 이상에서는 50% 감소하였다. 이로써 LCC-I lectin의 적혈구 응집력은 pH변화에 다소 민감한 편이었다.

**온도의 영향**—온도변화에 따른 안정성은 Fig. 5와 같았다. 50°C까지는 활성에 변화가 없었으나 55°C 이상에서는 급격하게 활성이 소실되어 버렸다. LCC-I lectin의 경우 -70°C에서 보존하였을 때 1년 이상 활성이 소실되지 않았고, 상온에서 48시간까지 방치



**Fig. 5**—Effects of temperature on the LCC-1 lectin. CM 52 0.1M NaCl fraction was incubated at various temperatures for 30 min. and remaining activity was examined.

하였을 때도 활성이 별로 소실되지 않았다. 이러한 결과들을 종합해 볼때, LCC-I lectin은 온도에 비교적 안정한 편이었다.

**당 특이성**—LCC-I lectin의 당에 의한 저해현상의 결과는 Table IV와 같았다. 44종의 당중 lactose와 lactulose에서만 저해현상을 보였으며, 또 이 두 당의 저해효과는 같은 것으로 나타났다.

**SDS-PAGE에 의한 분자량 측정**—LCC-I lectin의 subunit의 분자량을 측정하기 위하여 SDS-PAGE를 실시하여 Fig. 6과 같은 결과를 얻었다. LMW Calibration Kit와 함께 SDS-PAGE 하였을 때, LCC-I lectin은 분자량이 20,000 정도임을 추정할 수 있었다.

## 결 론

눈알고둥(*Lunella coronata coreensis*)으로부터 새로운 렉틴을 분리 정제하고 이에 대한 몇가지 특성을 연구하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 동물조직을 0.15M 생리식염수 추출, salt fractionation, gel filtration anion 및 cation exchange column chromatography 등을 이용하여, 렉틴을 분리 정제하여 LCC-I을 얻었으며, 이는 crude extract를 기준으로 35.2배 정제되고, 0.9% 회수되었다.

**Table IV**—Inhibitory effect of sugars on hemagglutinating activity of LCC-1 lectin

Sugar	Minimum concentration[mM] of sugars completely inhibiting 4 hemagglutinating doses*
<u>Monosaccharides</u>	
L-galactose	>100**
L-fucose	>100
D-arabinose	>100
D-fructose	>100
D-galactose	>100
D-fucose	>100
L-arabinose	>100
D-galacturonic acid	>100
D-glucose	>100
D-xylose	>100
D-glucuronic acid	>100
D-sorbose	>100
L-glucose	>100
L-sorbose	>100
L-xylose	>100
L-rhamnose	>100
L-mannose	>100
L-lyxose	>100
D-mannose	>100
D-lyxose	>100
D-ribose	>100
N-acetylneuraminic acid	>100
N-acetylgalactosamine	>100
N-acetylglucosamine	>100
D-glucosamine	>100
D-galactosamine	>100
<u>Methyl or phenyl glucoside of monosaccharides</u>	
methyl- $\alpha$ -D-galactopyranoside	>100
methyl- $\beta$ -D-galactopyranoside	>100
methyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside	>100
methyl- $\beta$ -D-glucopyranoside	>100
phenyl- $\beta$ -D-galactoside	>100
phenyl- $\alpha$ -D-glucoside	>100
phenyl- $\beta$ -D-glucoside	>100
<u>Oligosaccharides</u>	
sucrose	>100
trehalose	>100
maltose	>100
cellobiose	>100
melizitose	>100
melibiose	>100
raffinose	>100
stachyose	>100
lactose	6.25
lactulose	6.25
lactobionic acid	>100

\*Hemagglutination inhibition tests were performed using DE 52 0.2 M and CM 52 0.1 M fraction.

\*\*Showing no inhibition(>100 mM).

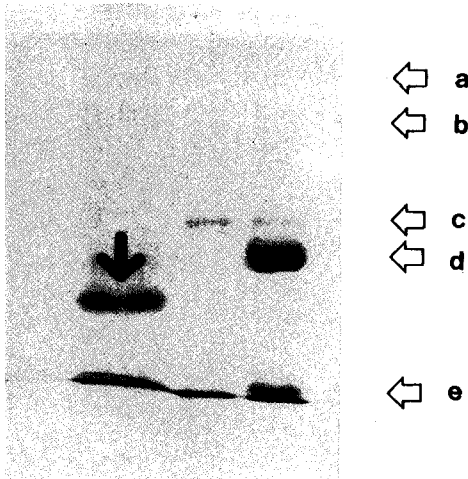


Fig. 6—SDS-polyacrylamide gel electrophoretic pattern of LCC-I Lectin.

a. Albumin from bovine serum(68,000) b. Albumin from hen egg(45,000), c. Carbonic anhydrase(29,000), d. Chymotrypsinogen A(25,000), e. Cytochrome(12,500), →: LCC-I lectin

2. Polyacrylamide gel electrophoresis에서 LCC-I lectin은 1개의 major band가 나타났기 때문에 순수하게 정제된 것임을 알 수 있었다.

3. LCC-I 렉틴은 사람, 토끼, 소, 돼지 및 흰쥐의 적혈구에 대한 응집반응을 나타냈으며, 활성은 pH 3 이하, pH 9 이상에서는 불안정하였으나 pH 4~9 사이에서는 안정된 응집역가를 나타냈고, 온도변화에는 50℃ 이상에서 급격한 활성 소실이 있었으나 비교적 안정하였다.

4. 적혈구 응집반응은 lactose, lactulose의 6.25 mM 농도에서 저해되어 당 특이성을 나타내었다.

5. SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis 상에서, LCC-I 렉틴은 1개의 major band만을 나타냈고 분자량은 대략 20,000 정도로 추정되었다.

### 감사의 말씀

이 논문은 1991년도 교육부 지원 한국학술진흥재단의 대학부설연구소 지원 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

### 문 헌

1) Sharon, N. and Lis, H.: A Century of lectin resea-

rch (1888-1988). *Trends in Biochem. Sci.*, **12**, 488-491 (1987).

2) Monsigny, M., Kieda, C. and Roche, A.C.: Membrane lectins. *Biol. Cellulaire*, **36**, 289-300 (1970).

3) Barondes, S.H.: Soluble Lectins. A new class of extracellular proteins. *Science* **223**, 1259-1264 (1984).

4) Liener, I.E., Sharon, N. and Goldstein, I.J.: in *The Lectins: Properties, and Functions and Applications in Biology and Medicine*: Academic Press, New York, pp.1-600 (1986).

5) Vasta, G.R. and Marchalonis, J.J.: Humoral recognition factors in the arthropoda. *Amer. Zool.*, **23**, 157-171 (1983).

6) Chung, S.R., Jeune, K.H. and Suh, Y.A.: *Lectins from the Ocean. Proceedings of the 2nd Symposium on the Biochemical Methodology for the Research and Development of the Bioactive Substances*. The Biochemical Society of Korea, pp.349-371 (1991).

7) Chung, S.R., So, M.S. and Jeune, K.H.: *Bioactive Marine Natural Substance, Lectins. Proceedings of the International Congress of New Drug Development*, The Pharmaceutical Society of Korea, pp. 345-356 (1991).

8) Campbell, P. Hartman, A.L. and Abel, C.A.: Stimulation of B cell but not T cell or thymocytes, by a sialic acid-specific lectin. *Immunology* **45**, 155-162 (1982).

9) Liener, I.E., Sharon, N. and Goldstein, I.J.: Properties, function and application in biology and medicine, in *The Lectin*. Academic Press, New York, pp.1-600 (1986).

10) Robb, R.J.: Interleukin 2: The molecule and its function. *Immunol. Today* **5**, 203-209 (1984).

11) Blakey, D.C., Wawrzynezak, E.J., Wallace, P.M. and Trope, P.E.: Antibody Toxin Conjugates: A Perspective in Monoclonal Antibody Therapy. *Progress in Allergy*. Waldmann, H. (eds), Basel Publications, **45**, pp.50-90 (1988).

12) Aggarwal, B.B., Traquana, P.R. and Eessalu, T.E.: Modulation of receptor and cytotoxic response of tumor necrosis factor- $\alpha$  by various lectins. *J. Biol. Chem.*, **261**, 13652-13656 (1986).

13) Cuatrecasas, P.: Interaction of Concanavalin A and



- Wheat germ agglutinin with the insulin receptor of fat cells and liver. *J. Biol. Chem.*, **248**, 3528-3531 (1973).
- 14) Roth, R.A., Cassell, D.J., Maddux, B.A. and Goldfine, I.O.: Regulation of insulin receptor kinase activity by insulin mimicker and an insulin antagonist. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **115**, 245-252 (1983).
  - 15) Green, E.D. and Baenziger, J.U.: Characterization of oligosaccharides by lectin affinity high-performance liquid chromatography. *Trends Biochem. Sci.*, **14**, 168-172 (1989).
  - 16) Sharma, S.K. and Mohendroo, P.P.: Affinity chromatography of cell and membranes. *J. Chromatogr.*, **184**, 471-499 (1980).
  - 17) Sharon, N.: Lectin receptors as lymphocyte surface markers. *Ach. Immunol.*, **34**, 213-298 (1983).
  - 18) Kitao, T. and Hattori, K.: Concanavalin A as carrier of daunomycin. *Nature* **265**, 81-82 (1977).
  - 19) Chung, S.R., Kim, J.H. and Jeune-Chung, K.H.: Studies on lectins from marine shells (II): Isolation purification and characterization of lectin from shellfish, *Neptunea intersculpta*. *Korean Biochem. J.*, **18**, 429-435 (1985).
  - 20) Chung, S.R., Kim, J.H., Suh, Y.A. and Jeune-Chung, K.H.: Studies on lectins from marine shells (II): Screening of lectin-like agglutinins from marine shells. *Arch. Pharm. Res.*, **9**, 201-203 (1986).
  - 21) Chung, S.R., Kim, J.H. and Jeune-Chung, K.H.: Studies on lectin from marine shells (V): Isolation and purification of lectin for *Tapes philippinarum*. *Yakhak Hoeji* **31**, 52-59 (1987).
  - 22) Chung, S.R., Son, K.S., So, M.S. and Jeune-Chung, K.H.: Lectin from marine shells (VII): Partial purification and characterization of new lectin from a top shell, *Chlorostoma argyrostoma lischkei*. *Korean Biochem. J.*, **20**, 247-252 (1987).
  - 23) Davis, B.J.: *Disc Electrophoresis II*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **121**, pp.404-427 (1964).
  - 24) Ravindranath, M.H., Higa, H.H., Cooper, E.L. and Paulson, J.C.: Purification and characterization of an O-acetylsialic acid-specific lectin from marine crab *Cancer antennarius*. *J. Biol. Chem.*, **260**, 8850-8856 (1985).
  - 25) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagents. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
  - 26) Laemmli, G.U.K. and King, J.: Polypeptides of the tail fibres of bacteriophage T<sub>4</sub>. *J. Mol. Biol.*, **62**, 465-477 (1971).