

## 겨우사리 중의 렉틴성분 분리 및 특성

박원봉\* · 김희숙

서울여자대학교 자연과학대학 화학과

(Received May 23, 1994)

### Isolation and Characterization of Lectin from *Viscum coloratum*

Won Bong Park\* and Hee-Sook Kim

Department of Chemistry, College of Natural Sciences,  
Seoul Woman's University, Seoul 139-774, Korea

**Abstract**—Lectin from mistletoe (*Viscum coloratum*) were obtained by salt fractionation, gel filtration and anion exchange chromatography. A molecular weight of about 60,000D has been determined by SDS-PAGE and two basic subunits which have molecular weights of 33,000D and 28,000D are linked by a disulfide bond. The partially purified mistletoe lectins agglutinated human B erythrocytes. Agglutinating activity was relatively stable at varied pH (3.77~8.71) and at temperature range of 0~40°C and not affected by 9 metal ions. Galactose, lactose and N-acetyl-D- galactosamine inhibited agglutinating activity of lectin. Lectin from mistletoe was more mitogenic to murine lymphocytes than concanavalin A.

**Keywords** □ lectins, hemagglutination, mitogen, *Viscum coloratum* (mistletoe)

겨우사리(*Viscum coloratum*, mistletoe)는 그 숙주식물에 따라 여러 과와 종으로 나뉘어진다. 본 실험에 사용한 겨우사리는 겨우사리과에 속하는 것으로 참나무, 팽나무, 물오리나무, 밤나무 등에 기생하는 상록관목이다.

한방명으로는 기생목(寄生木), 동청(凍靑), 냉청(冷靑), 해기생(解奇生), 표기생(票寄生), 기엽(技葉), 비상(比桑) 등으로 불리어지고, 요통, 고혈압, 산후, 동상, 강심제, 동맥경화증에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 유럽에서도 수천년간 유럽산 겨우사리(*Viscum album*)를 간질, 고혈압, 당뇨 등의 치료제로 광범위하게 이용하여 왔고, 현재는 겨우사리의 항암활성으로 인해 많은 관심을 모으고 있다.<sup>1)</sup> 또한 오래전부터 발효시킨 겨우사리(Iscador®)를 암치료에 이용하여 왔으며, 많은 임상시험이 시도되고 있고, 폐암, 결장암, 유방암 등의 수술후의 치료에 효과가 있을 것이라는

제안이 있지만 납득할 만한 과학적 근거는 없는 상태이다.<sup>2)</sup> 겨우사리에서 중요한 활성을 갖는 것으로 알려져 있는 물질로는 렉틴이 있다. 렉틴은 단백질 혹은 당단백질로 되어 있고, 당과의 결합부위를 2~6개 까지 가지고 있으며 분자량, subunit 등이 매우 다양하다.<sup>3)</sup> 일반적으로 겨우사리에 존재하는 렉틴은 A-chain(active-chain)과 B-chain(binding-chain)이 disulfide bond에 의해 결합되어 있는 것으로 알려져 있다.<sup>4-6)</sup> 렉틴의 B-chain은 binding chain으로 세포 표면의 당과 항원-항체의 결합력과 비슷하거나 더 큰 힘으로 결합하는 subunit이고, A-chain은 active chain으로 B-chain이 세포 표면의 수용체에 결합하면 세포 내부로 침투하여 진핵세포의 리보조음을 불활성화시켜서 단백질 합성을 저해시키는 작용을 한다.<sup>7)</sup>

한편, Vitetta 등은 A-chain을 단일클론성항체에 붙여서 immunotoxin을 만들어 그 항체의 목적 세포에 만 특이적으로 작용할 수 있게 하여 악성세포나 생

\*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

체내에 존재하면 안되는 세포를 죽이는데 A-chain을 이용할 수 있음을 보였다.<sup>8)</sup> Bjorn 등은 PAP(type 1 RIPs의 하나)와 transferrin 수용체를 붙여서 만든 immunotoxin을 이용하여 사람의 유방암 세포(MCF-7)를 효과적으로 죽일 수 있음을 보였다.<sup>9)</sup> 이와 같이 많은 종류의 immunotoxin들이 암의 화학적 치료법에 이용되고 있고, 또 이종이식에 의해 생긴 이종의 T-림프구를 죽임으로써 이식수술에 의한 부작용을 막는데도 이용되고 있다.<sup>9)</sup>

렉틴의 또 다른 중요한 생리 활성으로는 림프구 자극 분열 효과가 있는데, 대부분의 렉틴이 T-림프구를 자극 분열시키며, B-림프구를 자극 분열하는 렉틴도 보고된 바 있다.<sup>9)</sup> 이러한 특성을 갖는 렉틴은 식물체에 널리 존재하며, 식물은 동물과는 달리 면역 체계를 가지고 있지 않기 때문에 렉틴이 세포 표면에 붙어서 그러한 역할을 수행하도록 하는 것으로 추측되고 있다.<sup>10)</sup>

겨우사리 렉틴은 주로 유럽에서 많이 연구되어 왔고, 유럽산 겨우사리(*Viscum album*)의 렉틴에 대한 연구도 많이 진행되어 있지만 아직 우리나라에서 자라는 겨우사리에 대한 연구는 별로 없는 편이다. 따라서 본 실험에서는 우리나라에서 자라는 참나무, 배나무 등에 기생하는 겨우사리의 단백질 성분을 추출하여 겔 여과, 음이온 교환 column chromatography 하여 렉틴 성분을 분리, 정제하였다. 전기영동에 의해 순도검정 및 분자량을 측정하였고, 정제된 렉틴에 미치는 pH, 온도 및 금속이온의 영향을 조사하였고, 당에 대한 결합 특이성을 알아보았다. 또한 림프구 자극 분열 효과를 시험하여 본 실험에서 분리된 렉틴의 생리 활성을 조사하였다.

### 실험방법

**실험재료**—본 실험에 사용한 겨우사리(*Viscum coloratum*)는 강원도 고성에서 참나무와 배나무에 기생하는 것을 채취하여 -20°C에 보관한 것이다. 식물은 동덕여자대학교 약학대학의 도상학 교수가 감정하였다.

**시약**—Sephadex G-75는 Pharmacia Fine Chemicals(Uppsala, Sweden)에서, DEAE-Cellulose C-545는 Fluka Chemie AG.에서 구입하였고, 표준 분자량 marker와 D-galactosamine, N-acetyl-D-galactosa-

mine은 Sigma Chemical Co.에서 구입하였으며 기타 시약들은 시중에서 특급 내지 일반시약을 구입하여 사용하였다.

**기기**—본 실험에서는 Diode array UV-vis spectrophotometer(Hewlett Packard 8452A), Mini cell(Novex CA 92121), Fraction collector(Vision Scientific Co.), Peristaltic pump(Vision Scientific Co.), pH meter (Suntex), Centrifuge (Hanil Industrial Co.), Incubator(Sewon Instrument Co.)등의 기기를 사용하였다.

**Crude extract 추출**—겨우사리 100 g을 50 mM borax(sodium tetraborate) 완충용액(pH 8.0) 500 ml와 함께 녹즙기로 2회 갈고, 4,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상정액을 취하였다. 100% 포화 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 단백질을 침전시키고 4,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 얻어진 침전물을 소량의 50 mM borax 완충용액에 녹여 4°C에서 48시간 동일한 완충용액으로 투석한 후, 원심분리하여 불용성 물질은 제거하고 동결건조하여 crude extract로 하였다.

**적혈구 응집반응에 의한 렉틴 활성 측정**—주사기로 사람 B형 혈액을 5 ml를 뽑아서 1 ml Alsever's 용액이 들어있는 vial에 넣었다. 10배량의 0.15 M NaCl로 부유시켜 세척한 후, 희석하여 3% 적혈구 부유액을 얻었다. Well plate에 0.15 M NaCl 50 μl를 넣고 시료 50 μl를 첨가하여 2배수로 단계적으로 희석한 후, 3% 적혈구 부유액 50 μl를 가하였다. 37°C에서 1시간 배양시킨 후, 대조표준과 비교하여 응집유무를 확인하였다.

**Sephadex G-75 겔 여과(pH 8.0)**—Crude extract를 소량의 50 mM borax 완충용액(pH 8.0)에 녹인 후, 동일한 완충용액으로 미리 평형시켜둔 Sephadex G-75 column(3.3 60 cm)에 주입하였다. 유속을 30 ml/hr로 하여 겔 여과를 실시하였다. 각 분획의 단백질 성분은 280 nm에서 흡광도를 측정하여 확인하였고, 렉틴 활성은 사람 B형 적혈구 응집반응으로 확인하였다. 활성을 나타낸 분획을 모아서 100% 포화 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 침전시키고 4°C에서 50 mM tris-HCl 완충용액(pH 8.5)으로 48시간 투석하여 다음 정제 단계의 시료로 사용하였다.

**DEAE-Cellulose C545 음이온 교환 chromatography(pH 8.5)**—전항에서 얻어진 시료를 50 mM tris-HCl 완충용액(pH 8.5)으로 미리 평형시켜 둔

DEAE cellulose C 545 column(1.6 25 cm)에 주입하였다. 유속을 15 ml/hr로 하여 약 150 ml의 비흡착 단백질 분획을 받아 렉틴 활성을 확인하고, column에 흡착되어있는 단백질은 NaCl 농도를 0.05 M, 0.10 M, 0.15 M, 0.20 M, 0.30 M, 0.40 M로 변화시키면서 stepwise salt gradient 방법에 의해 분리하였다. 사람 B형 적혈구 응집반응을 실시하여 렉틴 활성을 가지는 분획을 찾았다.

**SDS-PAGE에 의한 분자량 측정**—전기영동은 Weber 등<sup>11)</sup>의 방법을 이용하여 실시하였다. 시료 및 표준 분자량 단백질 50 l에 sample buffer 50 l(0.2% BPB 함유)를 가하고 98~100°C에서 1분 30초간 반응시켰다. 미리 만들어 굳혀 놓은 겔에 시료를 50  $\mu$ 씩 주입하고 stacking 겔에서 15 mA, 80 V로 약 1시간 전개시킨 다음, separating 겔에서 30 mA, 200 V로 2~3시간 전개시켰다. 이 때 시료는 SDS만 처리한 것과 SDS와 2-mercaptoethanol로 처리한 것의 두 가지로 하였다. 0.125% Coomassie blue 용액으로 염색한 후, 탈색하여 단백질의 띠를 확인하였다.

**렉틴 활성에 미치는 pH, 온도 및 금속이온의 영향**—16HU의 활성을 나타내는 렉틴 용액을 pH 2.03~10.62사이의 여러가지 완충용액에서 4°C, 24시간 투석시킨 후 남아있는 렉틴의 활성을 조사하였다. 완충용액으로는 25 mM KCl-HCl(pH 2.03), 25 mM glycine-HCl(pH 3.00), 25 mM citrate(pH 3.77), 25 mM citrate(pH 4.80), 25 mM tris-HCl(pH 7.48), 25 mM tris-HCl(pH 8.71), 25 mM carbonate(pH 9.68), 25 mM carbonate(pH 10.62)를 사용하였다.

16HU의 활성을 나타내는 렉틴 용액을 0~90°C사이의 온도에서 30분간 정치 항온시킨 후, 즉시 얼음물에 냉각시킨 다음 남아있는 활성을 조사하였다. Ba<sup>+</sup>, Ca<sup>+</sup>, Cu<sup>+</sup>, Fe<sup>+</sup>, Fe<sup>+</sup>, Hg<sup>+</sup>, Mg<sup>+</sup>, Mn<sup>+</sup>, Zn<sup>+</sup>을 20 mM로 제조하여 well plate에 50  $\mu$ 를 취해 2배수로 단계적으로 희석하고 각 well에 2HU의 활성을 나타내는 렉틴 용액 50  $\mu$ 를 가하고 1시간 방치시킨 후, 3% 적혈구 부유액 50  $\mu$ 를 가하였다. 37°C에서 1시간 배양시킨 다음 대조표준과 비교하여 적혈구 응집력의 저해효과를 조사하였다. 이 때 금속이온에 의한 저해 효과는 적혈구 응집력을 완전히 저해할 수 있는 최소의 금속이온 농도로 표시하였다.

**렉틴의 당특이성**—당에 의한 적혈구 응집 저해 효과는 Ravindranth 등<sup>12)</sup>의 방법을 응용하여 실시하였

다. 200mM의 D-glucose, D-galactose, L(+)-arabinose, D(-)-fructose, maltose, sucrose, lactose, D-galactosamine, N-acetyl-D-galactosamine을 well plate에 50  $\mu$ 를 취해 2배수로 단계적으로 희석하고 각 well에 2HU의 활성을 나타내는 렉틴 용액 50  $\mu$ 를 가하여 4°C에서 1시간 반응시킨 후 3% 적혈구 부유액 50  $\mu$ 를 가하였다. 37°C에서 1시간 배양시켜 대조표준과 비교하여 적혈구 응집력의 저해 효과를 조사하였다. 이 때 당에 의한 저해 효과는 적혈구 응집력을 완전히 저해할 수 있는 최소의 당 농도로 표시하였다.

**아미노산 조성**—정제된 시료 2 mg에 6N HCl 0.1 ml를 가하여 98°C에서 8시간 가수분해시킨 다음, 원심분리하여 상침액을 80°C에서 15시간 건조시키고 다시 완충용액에 녹인 후 아미노산 자동분석기에 주입하여 다음과 같은 조건으로 분석하였다.

HPLC ; Beckmann 6300 system, Column ; Lithium methologis column, 2.6 mm 100 mm, Mobile phase ; Li-A, B, C buffer(Beckmann), Sample size ; 50  $\mu$ , Detector ; Vis 440 570 nm, Column temp ; gradient 34~63°C, Flow rate ; 20 ml/hr.

**림프구 자극 분열 효과**—렉틴의 림프구 자극 분열 효과는 Pandolfi 등<sup>13)</sup>의 방법을 응용하여 실시하였다. Crude extract를 겔 여과한 것을 시료로 하여 흰 쥐의 림프구에 대한 mitogenic activity를 측정하였다. 렉틴 용액과 Con A는 멸균된 milipore 여과지를 통과시켜 제공하여 사용하였다. RPMI 배지는 carbonate 완충용액에 HEPES를 10mM이 되도록 가하고, gentamycin 1.4 ml/l를 가한 다음, 40% NaOH를 가해 pH 7.4로 하여 여과한 후 냉동보관하여 사용하였다. 10% serum 배지는 10% bovine calf serum을 56°C에서 30분간 배양한 후 냉동보관하여 사용하였다.

150 g의 흰쥐의 비장세포를 RPMI 배지에 부유시켜 세척하여 얻은 것을 희석하여 2.5×10<sup>6</sup> cell/ml가 되도록 하고 1,700 rpm에서 10분간 원심분리한 다음 침전물에 10% serum 배지 2 ml를 가하였다. Well plate에 100  $\mu$ 씩 분주하고, 렉틴 용액을 10  $\mu$ 씩 가하여 혼합한 후, 37°C에서 4시간 배양한 후 MTT assay와 SRB assay를 실시하였다.

## 결과 및 고찰

**렉틴의 분리**—겨우사리의 Crude extract를 Se-

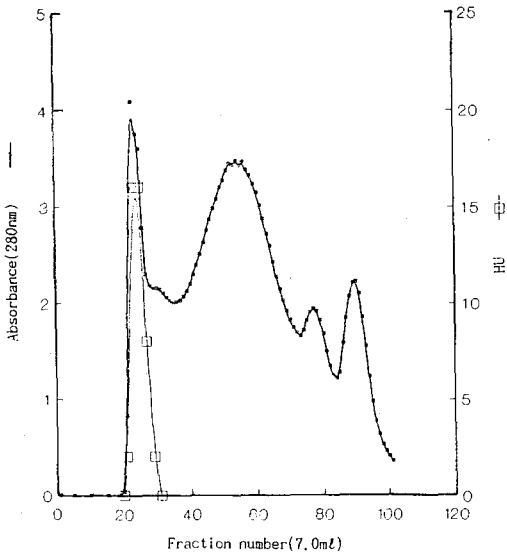


Fig. 1—Gel filtration of crude extract of *Viscum coloratum* on Sephadex.

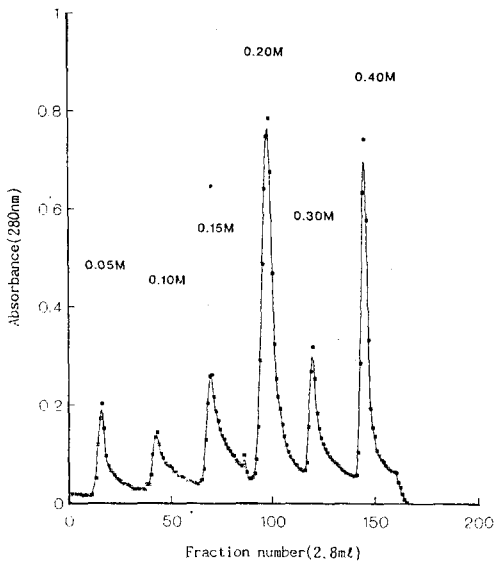


Fig. 2—DEAE-cellulose chromatogram of fraction eluted from Sephadex G-75, column: 1.6×25 cm, flow rate: 15 ml/hr.

phadex G-75 column(pH 8.0)으로 겔 여과하여 Fig. 1과 같은 결과를 얻었다. 사람 B형 적혈구 응집력을 시험한 결과 분획 번호 21~25사이에서 렉틴 활성이 나타났다. 이 분획을 모아서 농축하여 DEAE-cellu-

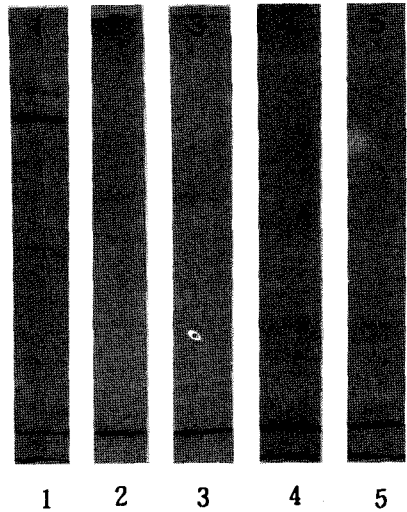


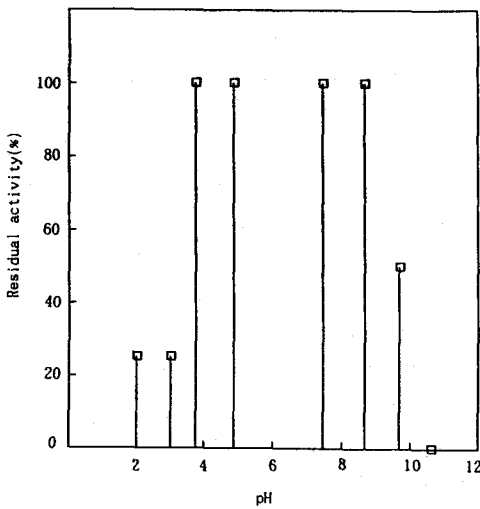
Fig. 3—SDS-polyacrylamide electrophoresis patterns of proteins purified from *Viscum coloratum*.

lose로 음이온 교환 chromatography를 실시하여 Fig. 2와 같은 결과를 얻었다. 약 150 ml의 비흡착 단백질을 받고, 0~0.40 M NaCl로 stepwise salt gradient하여 수지에 흡착된 단백질을 분리하였다. 각각의 peak에 대한 사람 B형 적혈구 응집력을 측정된 결과 NaCl 농도 0.20 M와 0.30 M에서 용출된 단백질 분획이 8HU로 가장 큰 렉틴 활성을 나타냈다. 이것을 표준 분자량 marker와 함께 전기 영동하여 순도 및 분자량을 측정하였다.

순도검정 및 분자량 측정—β-Galactosidase(m.w : 116,000D), phosphorylase (m.w : 97,000D), albumin(m.w : 66,000D), fumarase(m.w : 48,500D), carbonic anhydrase(m.w : 28,000D)의 5개의 표준 분자량 단백질과 음이온 교환 column chromatography에 의해 정제된 분획(0.20 M, 0.30 M 분획)을 전기영동하여 순도검정 및 분자량을 측정하여 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 3을 보면 0.20 M 분획(lane 2, 4)보다 0.30 M 분획(lane 3, 5)이 더 순수하게 정제되었음을 알 수 있었다. 이것을 렉틴-1이라 하였다. SDS로만 처리한 lane 3에는 하나의 진한 띠가 나타났고, SDS와 2-mercaptoethanol로 처리한 lane 5에는 두개의 띠가 나타났다. 표준 분자량 단백질의 이동도 대 log(분자량)의 검정곡선으로부터 분자량을 측정된 결과, 렉틴-1과 A-chain, B-chain의 분자량이 각각 60,436D, 28,451D, 33,036D임을 알았다. 즉 겨우사리

**Table I**—Effect of pH on hemagglutinating activity of lectin purified by gel filtration

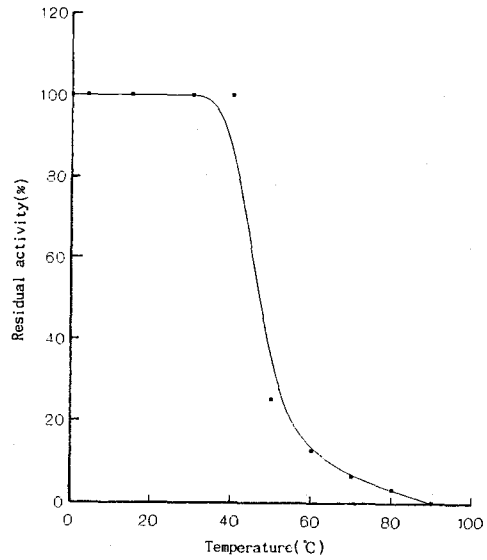
| Buffer (25 mM) | pH    | Residual activity(%) |
|----------------|-------|----------------------|
|                |       | Lectin-1             |
| KCl-HCl        | 2.03  | 25                   |
| Glycine-HCl    | 3.00  | 25                   |
| Citrate        | 3.77  | 100                  |
| Citrate        | 4.84  | 100                  |
| Tris-HCl       | 7.48  | 100                  |
| Tris-HCl       | 8.71  | 100                  |
| Carbonate      | 9.68  | 50                   |
| Carbonate      | 10.62 | 0                    |



**Fig. 4**—Effect of pH on hemagglutinating activity of lectin purified by gel filtration.

에 존재하는 렉틴은 분자량이 약 60,000D 정도이고, 약 28,000D의 A-chain과 약 33,000D의 B-chain이 external disulfide 결합에 의해 연결되어 있는 것으로 생각된다.

**렉틴 활성에 미치는 pH, 온도 및 금속이온의 영향**—pH 2.00~11.00사이에서 렉틴의 안정성을 실험하여 그 결과를 Table I, Fig. 4에 나타내었다. pH 2.03과 pH 3.00의 산성 조건에서는 각각 25%로 활성이 감소되었고, pH 9.68과 pH 10.62의 염기성 조건에서는 각각 50%, 0%로 활성이 감소되어 본 실험에서 분리한 렉틴이 산성 조건보다는 염기성 조건에서 더 불안정함을 알았다. pH 3.77~8.71 사이에서는 매우 안정하여 100%로 활성이 유지되었다. 0~90°C 사이의 온도에서 30분간 항온시킨 후 남아있는 렉틴



**Fig. 5**—Effect of temperature on the lectin purified by gel filtration.

**Table II**—Inhibition of lectin activity for human B erythrocytes by sugars

| Sugars                   | Minimum concentration(mM) of sugars completely inhibiting 2 HU doses |
|--------------------------|--|
| D-Glucose                | -  |
| D-Galactose              | 50   |
| L(+)-Arabinose           | 100  |
| β-D(-)-Fructose          | -  |
| Sucrose                  | -  |
| Maltose                  | -  |
| Lactose                  | 50   |
| D-Galactosamine          | -  |
| N-Acetyl-D-galactosamine | 6  |

활성을 측정하여 Fig. 5에 나타내었다. 40°C까지는 100%로 렉틴 활성이 유지되다가 50°C가 되면 25%로 급격히 감소되고 90°C가 되면 활성이 없어져 40°C보다 높은 온도에서는 온도에서는 단백질에 변성이 일어남을 알았다. 본 실험에서 사용한 9종의 금속이온들은 렉틴 활성에 아무런 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

**렉틴의 당 특이성**—렉틴에 대한 당의 적혈구 응집력 억제 효과를 9종의 당 용액을 이용하여 실험하였고, 그 결과를 Table II에 나타내었다. 4종만이 적혈구

응집력을 저해시키는 것으로 나타났다. 50 mM D-galactose, 100 mM L(+)-arabi-nose, 50mM lactose 와 6.25 mM N-acetyl-D-galactosamine에서 적혈구 응집력이 저해되어 이 렉틴이 N-acetyl-D-galactosamine과 가장 큰 결합 특이성을 가진다는 것을 알았다. 또한 D-galactose와 D-glucose, D-galactose의 disaccharide인 lactose와도 약간의 결합 특이성이 있는 것으로 보아 D-galactose configuration에 특이성을 가지고 있는 것으로 생각된다. 이와 같은 결과는 유럽산 겨우사리(*Viscum album*)에서 분리된 렉틴 중 렉틴 I(m.w : 115,000D)은 D-galactose에, 렉틴 II(m.w : 60,000D)는 D-galactose, N-acetyl-D-galactosamine에, 렉틴 III(m.w : 50,000D)는 N-acetyl-D-galactosamine에 특이성이 있다는 Franz 등<sup>4)</sup>의 보고와 비교하여 볼 때, 본 실험에서 분리한 렉틴과 Franz 등의 렉틴 II의 당 결합부위의 아미노산 배열에 유사성이 있을 것으로 생각된다.

**아미노산 조성**—염 농도 0.20 M 분획의 단백질의 아미노산 조성을 분석하여 그 결과를 Table III에 나

**Table III**—Percentages of amino acids in proteins purified by anion exchange column chromatography.

| Amino acids   | 0.20 M fraction |
|---------------|-----------------|
| Aspartic acid | 8.10            |
| Threonine     | 4.83            |
| Serine        | 7.28            |
| Glutamic acid | 6.56            |
| Proline       | 1.91            |
| Glycine       | 8.94            |
| Alanine       | 7.32            |
| Valine        | 2.88            |
| Methionine    | 0.34            |
| Isoleucine    | 2.34            |
| Leucine       | 6.20            |
| Tyrosine      | 1.16            |
| Phenylalanine | 2.19            |
| Histidine     | 34.07           |
| Lysine        | 5.94            |

**Table IV**—Lymphocyte stimulating activity of lectin purified from *Viscum coloratum* (unit : OD)

| Mitogen  | MTT assay | SRB assay |
|----------|-----------|-----------|
| Con A    | 0.201     | 2.261     |
| Lectin-1 | 0.236     | 2.374     |

타내었다. Histidine이 34.07%로 가장 많이 함유되어 있었고, 그 외에도 glycine, aspartic acid, alanine등 14종의 아미노산이 존재하는 것으로 나타났다.

**림프구 자극 분열 효과**—본 실험에서 분리한 렉틴-1(16HU)의 림프구 자극 분열 효과를 Con A(0.075 µg/µ)와 함께 비교 실험하여 Table IV와 같은 결과를 얻었다. MTT assay와 SRB assay 둘 다에서 렉틴-1이 Con A보다 약간 더 높은 활성을 나타내었다. 이것으로부터 겨우사리에 존재하는 렉틴이 쥐의 림프구를 자극시킴으로서 면역계를 활성화시킬 수 있다는 것을 알 수 있다.

### 결 론

겨우사리 중의 렉틴 성분을 겔 여과와 음이온 교환 column chromatography에 의해 분리, 정제하고 그 특성을 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 정제된 단백질을 SDS와 2-mercaptoethanol로 처리하여 전기영동한 결과 겨우사리에는 분자량 60,000D의 렉틴이 있으며, 이 렉틴은 33,000D의 B-chain과 28,000D의 A-chain이 disulfide 결합에 의해 연결되어 있는 것임을 알았다.

2. 정제된 렉틴을 pH 2.03~10.62에서 4°C, 24시간 투석한 후 남아 있는 활성을 측정한 결과 pH 3.77~8.71에서는 100% 활성이 유지되었으며, 따라서 본 실험에서 분리 조건으로 사용한 pH 8.00과 pH 8.50의 조건이 적당함을 확인하였다. 렉틴 활성에 미치는 온도의 영향은 40°C까지는 100%로 활성이 유지되는 것을 알 수 있었고, 9종의 금속이온은 렉틴 활성에 아무런 영향을 주지 않음을 알았다.

3. 렉틴의 당에 대한 결합 특이성을 9종의 당 용액으로 시험한 결과, D-galactose, L-(+)-arabinose, lactose, N-acetyl-D-galactosamine에서 적혈구 응집력이 억제되어 이들 당에 대해 특이성을 가짐을 알 수 있었고, 특히 N-acetyl-D-galactosamine과 가장 강하게 결합한다는 것을 알 수 있었다.

4. 정제된 단백질의 림프구 자극 분열 효과를 시험한 결과, 렉틴-1(16HU)이 Con A(0.075 µg/µ)보다 약간 더 큰 활성을 가짐을 알았다.

### 감사의 글

본 연구는 영동식품의 연구비 지원에 의하여 수행 되었으며 이에 감사를 드립니다. 또한 겨우사리를 제공하고 연구에 도움을 주신 강원대학교 식품공학과 함승시 교수님께 감사를 드립니다.

## 문 헌

- 1) Franz, H.: Request an Impartial Discussion of the So-Called Mistletoe Therapy. *Oncology* 43: suppl. 1, 1 (1986).
- 2) Tasneem A, Khwaja., Cecilia B. Dias and Stephanie Pentecost.: Recent studies on the Anticancer Activities of Mistletoe(*Viscum album*) and Its alkaloids. *Oncology* 43: suppl. 1, 42-50 (1986).
- 3) 김나영, 송인성, 김정룡: 특이수용체 결합에 의한 Lectin의 IEC<sub>18</sub> 세포독성. *대한내과학회잡지*. 41(6), 798-812 (1991).
- 4) Franz, H., Ziska, P. and Kindt, A.: Isolation and properties of three lectins from mistletoe(*Viscum album L.*). *Biochem. J.* 195, 481-484 (1981).
- 5) Olsnes, S., Stirpe, F., Sandvig, K. and Pihl. A.: Isolation and characterization of Viscumin, a toxic lectin from *Viscum album L.* (Mistletoe). *J. Biol. Chem.* 257(22), 13263-13270 (1982).
- 6) Luther, P., Theise, H., Chatterjee, B., Karduck, D. and Uhlenbruck, G.: The lectin from *Viscum album L.* -Isolation, characterization, properties and structure. *Int. J. Biochem.* 11, 429-435 (1980).
- 7) Olsnes, S. and Pihl, A.: Coben and von Heyningen(eds) Molecular action of Toxins and Viruses. Elsevier Biomedical Press. 51-105 (1982).
- 8) Fiorenzo, S. and Luigi, B.: Ribosome-inactivating proteins up to date. *FEBS.* 195, 1-8 (1986).
- 9) 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 (1982).
- 10) Sharon, N.: Lectins. *Sci. Am.* 236, 108-119 (1977).
- 11) Weber K and Osborn M: The reliability of the molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 244, 4406-4412 (1969).
- 12) Ravindranth, M, H., Higa, H. H., Cooper, E. L. and Paulson, J. C: Purification and characterization of an O-acetylsialin acid-specific lectin from marine crab *Cancer antennarius. L. Biol. Chem.* 260, 8850-8856 (1985).
- 13) Pandolfino, E. R., Namen, A. E., Munske, G. R. and Magnuson, J. A.: A comparison of the mitogenic and nonmitogenic lectins from lima beans. *J. Biol. Chem.* 258, 9203-9207(1983).