

표고버섯 렉틴의 림프구 자극 분열 및 암 세포 응집 효과

문익재 · 정시련* · 전경희[‡]
영남대학교 이과대학, *영남대학교 약학대학
(Received March 24, 1995)

Mitotic Stimulation and Cancer Cell Agglutination of the Lectin from *Lentinus edodes*

Ik-Jae Moon, See-Ryun Chung* and Kyung-Hee Jeune[‡]
College of Science, Yeungnam University, Gyongsan 712-749, Korea
*College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan 712-749, Korea

Abstract A lectin from the edible mushroom, *Lentinus edodes*, was purified through physiological saline extraction, ammonium sulfate fractionation and column chromatographies. On polyacrylamide gel electrophoresis, 0.05M fraction from hydroxyapatite column exhibited adjacent four sharp bands. The partially purified lectin agglutinated the erythrocytes of rabbit, mouse and rat, but not agglutinated human erythrocytes. The lectin's mitogenic effects were tested by its application to human and murine splenic lymphocytes. The results showed that the 0.05M fraction from hydroxyapatite was mitogenic, and the optimal dose of *Lentinus edodes* lectin was slightly lower than Con A by the culture with murine splenic and human peripheral lymphocytes. Meanwhile, its ability to agglutinate transformed cells was tested by its administration to continuous cell lines L1210 and HeLa cells. The lectin was found to be an agglutinin of tumor cell lines tested by L1210 and HeLa cells.

Keywords □ *Lentinus edodes*, Immunostimulant, Lectin, Hemagglutinin, Mitogen.

버섯은 진균류에 속하는 담자균과 자낭균중 자실체를 형성하는 고등균류로서 향미와 영양이 풍부하여 옛부터 송이(*Tricholoma matsutake*), 영지(*Ganoderma lucidum*), 목이(*Auricularia auricula-judae*), 표고(*Lentinus edodes*), 복령(*Poria cocos*) 등이 식용 및 약용으로 널리 애용되어 왔으며, 최근에는 식생활의 향상과 더불어 버섯의 약리적인 성분때문에 관심의 대상이 되고 있다. 버섯의 항종양 성분에 관한 연구는 국내에서 김 등에 의한 보고^{1,2)} 등이 있다. 특히 표고,³⁾ 자주줄각버섯(*Laccaria amethystina*),⁴⁾ 줄각버섯(*Laccaria laccata*)⁵⁾ 등으로부터 항암물질이 검출되는 것으로 보아 버섯류 천연물로부터 생리활성이 특이한 신약 개발이 기대된다. 그러나 버섯으로부터 렉틴, 특히 면역기능 증강작용이 있는 렉틴의 연구는 국내에서는 물론 선진 외국에서도 버섯자원의 특이성 탓으로 쉽게 찾아 볼 수 없다.

렉틴은 면역계를 통해 생성된 물질이 아니면서 당과 결합하여 세포를 응집시키고 당화합물을 침전시킬 수 있는 단백질 혹은 당단백질로 정의되며,⁶⁻⁸⁾ 식물, 동물, 미생물 등 자연에 광범위하게 분포되어 있다.⁹⁾

버섯으로부터의 렉틴 성분에 관한 연구로는 1907년 Ford가 *Amanita muscaria*, *A. solitaria* 등에서 hemagglutinin들의 존재를 보고한 것이 그 시작으로, 1950년 Elo 등에 의해 139종의 고등균류 중 4종의 추출물에서 혈액형 특이성이 보고된 것 등을 들 수 있다.⁹⁾ 그외에도 Sage와 Vazquez,¹⁰⁾ Sueyoshi 등¹¹⁾과 Guillot 등¹²⁾의 보고가 있지만, 국내에서는 본 연구진에 의한 몇편의 연구만이 알려져 있을 뿐이다.^{13,16)}

한편 표고로부터 lentinan을 개발하여 항암제로 상품화하기도 하였으나^{3,17,18)} 이 물질은 다당류이므로 본 연구에서 수행하려는 렉틴과는 전혀 다른 물질이고, 따라서 그 작용 기전도 다르다고 할 수 있다.

전보¹⁶⁾에서 저자들은 표고버섯 렉틴의 부분 정제와

[‡]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

생쥐 림프구 자극 분열 효과에 대해서 간단히 보고한 바 있다. 본 연구에서는 계속 실험을 수행하여 확인한 흰쥐 및 사람 림프구 자극 분열 효과와 암 세포 응집 효과등 몇가지 생물화학적 특성에 대해서 보고하고자 한다.

실험방법

실험재료 - 느타리과(Pleurotaceae) 자버섯속(Lentinus)에 속하는 표고(*Lentinus edodes*)버섯을 재배지인 상주군에서 매년 가을에 신선한 상태로 구입하여 실험재료로 사용하였다.

시약 - DEAE Sephadex A-50, tris(hydroxymethyl)-aminomethane, HEPES, acrylamide, bis-acrylamide, Con. A, N-acetylgalactose등은 Sigma Chemical Co. (USA)에서, hydroxyapatite는 Japan Biochemical Co. (Japan)에서, EMEM, fetal bovine serum은 Gibco Lab. (USA)에서, [^3H] thymidine은 Amersham International PLC (England)에서 구입하였고, 기타 일반 시약은 특급품을 사용하였다.

기기 - 실험에 사용한 주요 기기는 High speed centrifuge: Hitach(Japan); CO_2 -water jacket incubator: Shel-Lab(USA); Fraction collector: LKB 2070, ULTRORAC II(Sweden); UV-monitor: LKB 2238 UVICORD(Sweden); Electrophoresis apparatus: LKB 2001, Vertical Electrophoresis system (sweden); Amino acid analyzer: LKB 4150 ALPHA (sweden); Spectrophotometer: Pharmacia LKB-Ultraspec III(sweden); Scintillation spectrometer: MINAXI Tri-carb 4000 Packard(USA)등 이었다.

Crude 렉틴의 분리 및 column chromatography에 의한 정제 - 전보¹⁶⁾와 같은 방법을 이용하여 분리, 정제하였다. DEAE Sephadex A-50 column chromatography는 25 mM Tris-HCl 완충액(pH 7.4)으로 활성화시킨 gel을 column(2 × 27 cm)에 충전하고 평형시켰다. Crude 렉틴을 column에 주입하고 같은 완충액으로 세척한 다음, 단백질 성분은 NaCl의 농도를 50 mM에서 300 mM까지 step-wise gradient로 증가시키면서 유출시켰고,¹⁹⁾ 분리된 분획(fraction)은 280 nm에서 흡광도를 측정하여 단백질 농도를 확인하였으며, 렉틴활성은 토끼적혈구로 확인하였다. Hydr-

oxyapatite column(1.9 × 19 cm)을 5 mM phosphate 완충액(pH 6.8)으로 미리 평형 시킨 후, DEAE Sephadex A-50 column의 0.05 M 분획을 주입하고 완충액 농도를 50 mM에서 100 mM까지 stepwise gradient로 증가시키면서 단백질성분을 분리하였고,²⁰⁾ 동일한 방법으로 확인하였다.

Polyacrylamide gel 전기영동에 의한 순도확인 - Discontinuous buffer를 이용한 PAGE(polyacrylamide gel electrophoresis)는 Davis의 방법²¹⁾으로 pH 8.3에서 10% bis-polyacrylamide gel(0.8:30)로 실시하였다. 전기영동은 stacking gel 상에서 200 volt/slab의 전압으로, resolving gel에 도달할 때부터 400 volt/slab로 5시간 실시하였으며, tracking dye는 0.001% bromophenol blue를 이용하였다. 단백질 부위는 0.1% Coomassie brilliant blue R-250 용액(99% acetic acid: 95% ethanol: water = 2:5:5)으로 고정, 염색시킨 후 5% acetic acid와 95% ethanol(6:4, 7:3, 8:2)로 2시간 씩 탈색시켰다.

적혈구 응집력 시험 - 렉틴의 적혈구 응집력 시험은 microtiter plate에 시료 50 μl 를 연속 2배수 희석한 후, 각종 혈액에 3.8% sodium citrate 용액을 가하여 응고를 방지한 후, 0.15 M NaCl용액으로 세척하여 조제한 3% 적혈구용액을 가하여 실시하였다.²²⁾ 또한 적혈구의 trypsin처리는 세척한 4% 적혈구용액을 1% trypsin용액(10:1)으로 36.5°C에서 1시간 반응시킨 후, 0.15 M NaCl용액으로 세척하고, 3% 용액으로 만들어 사용하였다.²³⁾ 적혈구 응집력(HU: hemagglutinating unit)은 세포응집력을 나타내는 렉틴의 최대 희석 배수의 역수로 나타내었다.

아미노산 분석 - Crude 렉틴, DEAE Sephadex A-50의 0.05 M 분획과 hydroxyapatite의 0.05M 분획에서 얻은 동결건조한 렉틴 2 mg씩을 시험관에 취하고 nitrogen gas를 채운다음 6N-HCl 1.5 ml를 가한 후, 완전히 밀봉하여 115°C에서 24시간 가수분해시켰다. 가수분해산물은 3N-NaOH 1 ml로 중화한 다음, 증류수로 세척하여 vacuum evaporator로 건조시켰다. 이를 loading buffer(0.2M sodium citrate buffer, pH2.2) 1 ml에 녹여 millipore(0.22 μl)로 여과시킨 후, 아미노산 분석기로 아미노산 조성과 함량을 분석 비교하였다.

단백질 함량 분석 - 단백질 함량은 Lowry등의 방법²⁴⁾에 따라 bovine serum albumin을 표준품으로 하여

측정하였다.

쥐의 비장 림프구 분리 - Wysocki 와 Sato,²⁵⁾ Mishell등의 방법²⁶⁾에 따라 흰쥐(S.D. rat)의 비장을 분리하여 EMEM상에서 잘게 분쇄하고 탈지면으로 여과한 후, $1,500 \times g$ 에서 10분간 원심분리 하였다. 이 침전물에 Tris-buffered ammonium chloride 용액(0.168 M NH_4Cl : 0.17 M Tris-HCl, pH 7.65 = 9:1)을 가하여 적혈구를 용혈 시킨 후 원심분리하고 EMEM을 가하여 탈지면으로 여과한 후 사용하였다.

사람 림프구 분리 - 사람 림프구는 Callard등,²⁷⁾ Ly and Mishell등의 방법²⁸⁾으로 분리하였다. 주사기로 혈액을 채취하여 항응고제(heparin 10 IU/ml)를 함유한 EMEM과 1:1로 희석한 혈액 7 ml를 3 ml의 Histopaque-1077 media에 조심스럽게 취한 후 $400 \times g$ 에서 30분간 원심분리 하였다. 이때 분리된 림프구를 조심스럽게 취한 뒤 10 ml EMEM 을 가하여 $1,000 \times g$ 에서 10분간 원심분리하는 반복 세척을 거쳐 5% FBS(fetal bovine serum)를 함유한 EMEM으로 다시 한번 원심분리하여 림프구를 분리하였다.

림프구 자극 분열 효과 - 렉틴의 림프구 자극분열 효과는 Peacock와 Tomar의 방법²⁹⁾을 응용하여 측정하였다. 실험에 사용한 Con A는 1.6 mg/ml로 EMEM에 녹여 사용하였다. 전 항과 같이 분리한 림프구는 0.4% trypan blue로 viability를 시험한 후 흰쥐는 2×10^6 cells/ml로, 사람 림프구는 1.2×10^6 cells/ml로 조제하였고 배양액은 25 mM HEPES, 100 mg/ml streptomycin과 100 IU/ml penicillin을 함유한 EMEM으로 준비하였다. 림프구 배양은 flat bottom microtiter plate에서 실시하였다. 렉틴용액 100 μ l를 넣고 동량의 배양액으로 2배수 희석한 후 동량의 림프구 및 20% FBS를 각 well에 넣었다. 이를 CO_2 -배양기(5% CO_2 /95% air)에서 37°C 로 48시간 배양 시킨 후 0.5 μCi 의 [^3H] thymidine를 각 well에 넣고 24시간 더 배양시켰다. 배양이 끝난 림프구는 polypropylene filter funnel(d=25 mm, Gelman Inc.)로 glass microfibre filter(GF/C, Whatman Co.)상에서 여과 수집하고, cold PBS, 5% TCA, absolute methylalcohol 10 ml씩으로 세척, 건조시켰다. 건조된 여과지를 5 ml scintillation cocktail용액에 넣어 scintillation counter(MINAXI Tri-Carb)로 radioisotope양을 측정하였으며, 4회의 실험 data중 2회의 data를 통계 처리하였다.

암 세포 응집시험 - 암 세포는 HeLa와 L1210등의 cell line을 대상으로 하여 배양을 실시하였으며, media 제거를 위해 PBS(pH 7.2)로 두번 세척한 후, Falcon flask 바닥에 부착된 세포들을 분리하기 위해서 trypsin-EDTA(0.05%) 5 ml를 3분간 37°C 에서 처리하였다. Trypsin-EDTA 제거를 위해 media 2 ml를 취해 원심분리(1,000 rpm \times 3 min)한 다음 침전된 세포를 PBS 1 ml에 혼합한 뒤 1×10^6 cells/ml로 조제하여 사용하였다. 시료는 100 mg/ml되게 조제하여 U-shape microtiter plate상에서 수행하였다. 먼저 PBS 50 μ l를 취하고 동량의 렉틴 용액을 2배수 희석한 다음 미리 준비된 cell(1×10^6 cells/ml)을 50 μ l 취한 뒤 상온에서 1시간 후 부터 현미경으로 수 회 관찰하였다.

결과 및 고찰

렉틴의 분리 및 정제 - 표고의 crude extract를 ammonium sulfate로 0~80% 포화침전시켰을 때 가장 높은 렉틴 활성을 나타냈으므로 이를 crude 렉틴으로 하였으며 crude 렉틴은 3.9배 정제되었고 47% 회수되었다. Crude 렉틴을 DEAE Sephadex A-50 column으로 chromatography하였을 때 0.05 M과 0.2 M 분획에서 렉틴이 유출되었으나 0.05 M 분획이 0.2 M 분획보다 색소가 적고 강한 활성을 나타냈으며, 0.05 M 분획은 16.9배 정제되었고 18% 회수되었다.

DEAE Sephadex A-50 column의 0.05 M 분획을 hydroxyapatite column으로 더욱 정제하여 Fig. 1과 같은 결과를 얻었다. 0.05 M 분획에서만 렉틴이 유출되었으며, 40.4배 정제되었고 1.4%회수되었다(Table I). 김³⁰⁾에 의한 연구에서 *Lactarius piperatus*의 경우 최종 정제 단계인 hydroxyapatite column의 0.05 M 분획(480배, 1.8%)과 비교해 볼 때 정제도는 다소 떨어지나 회수율은 비슷한 결과를 나타내었다. 표고 렉틴의 정제 단계에 따른 각 분획을 전기영동한 결과, crude 렉틴은 다수의 band를 나타냈지만 정제됨에 따라서 band수가 줄어들었으므로 가지적으로 정제 정도를 확인할 수 있었고 여러 단계를 거쳐 정제된 hydroxyapatite 0.05 M 분획인 경우 인접한 4개의 band를 나타내었다(Fig. 2).

적혈구 응집력 - 표고 렉틴(crude lectin)에 대하여 사람 및 각종 동물의 적혈구로 렉틴 활성도를 조사하여

Table I — Purification of lectins from *Lentinus edodes*

Purification step	Total protein(mg)	Total unit(x 10 ³)	Specific activity (units/mg)	purification[fold]	Recovery(%)
Extraction	4,528.6	3,405	752	1	100
Salt fractionation	552.1	1,600	2,898	3.9	47
0.05 M fraction of DEAE Sephadex A-50	48	613	12,680	16.9	18
0.05 M fraction of Hydroxyapatite	1.5	46	30,395	40.4	1.4

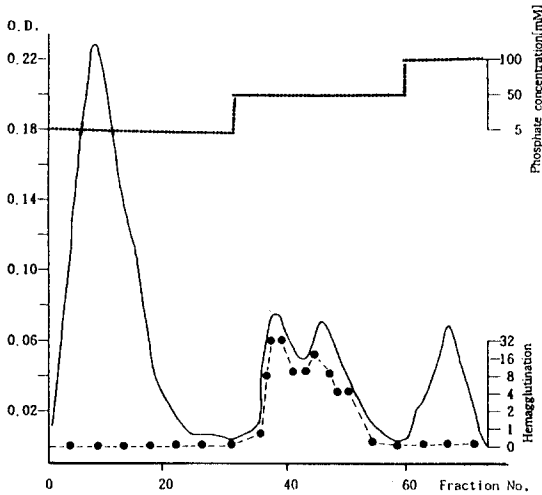


Fig. 1 — Elution profiles of 0.05 M fraction from DEAE Sephadex A-50 column on the hydroxyapatite column(1.9×19 Cm) chromatography absorbance at 280 nm. —: lectin activity, ●●●: phosphate gradient, —: flow rate, 15 ml/hr



Fig. 2 — Polyacrylamide gel electrophoresis
A: 0.05 M fraction of hydroxyapatite column
B: 0.05 M fraction of DEAE Sephadex A-50 column
C: Crude lectin

Table II와 같은 결과를 얻었다. 사람, 개(dog), 닭(chicken)등의 적혈구는 응집을 나타내지 않았으며, 설치류인 생쥐(mouse), 흰쥐(rat), 토끼(rabbit)적혈구에는 응집반응을 나타내었다. Trypsin처리를 하였을 경우 토끼 적혈구에서만 응집력이 증가되었다. 이상의 결과에서 본 연구팀은 사람 혈액을 응집시키지 않는, 따라서 사람에게 독성이 없으리라 생각되는 렉틴 성분을 개발할 수 있다고 판단하였다.

아미노산 분석 - Crude 렉틴과 DEAE Sephadex A-50 column의 0.05 M 분획 및 hydroxyapatite의 0.05 M 분획에 대한 아미노산 조성을 분석하여 Table III과 같은 결과를 얻었다. Crude 렉틴, DEAE Sephadex A-50 column의 0.05M 분획 및 hydroxyapatite의 0.05 M 분획을 비교해 볼 때, 아미노산 중 ser-

ine, glutamic acid는 정제되어 가면서 양이 증가하였는데 렉틴 함유 버섯인 *Lactarius piperatus*³⁰⁾와 비슷한 결과였으며, 특히 proline의 양은 최종적으로 현저히 증가하였다. 한편 염기성 아미노산인 histidine, 비극성 아미노산인 valine과 isoleucine양은 감소하였다. 황 함유 아미노산인 cystine은 일부단계에서 검출되었지만 methionine은 모든 정제과정의 렉틴에서 전혀 검출되지 않았으며, *Lactarius subzonarius* 경우도 methionine은 검출되지 않았다. 한편 *Lactarius piperatus*³⁰⁾와 달리 최종 정제 과정 이후의 표고렉틴은 aspartic acid, threonine과 glycine이 검출되지 않았으나 serine과 proline은 상당량 존재하였다. 당과 O-결합하는 serine은 상당량 존재하여 당단백질의 존재를 암시해

주었다.

림프구 자극 분열 효과 - 전보¹⁶⁾에서 생쥐(I.C.R mouse) 비장 림프구에 대한 hydroxyapatite 0.05 M 분획의 mitogenic activity를 보고한 바 있는데 이

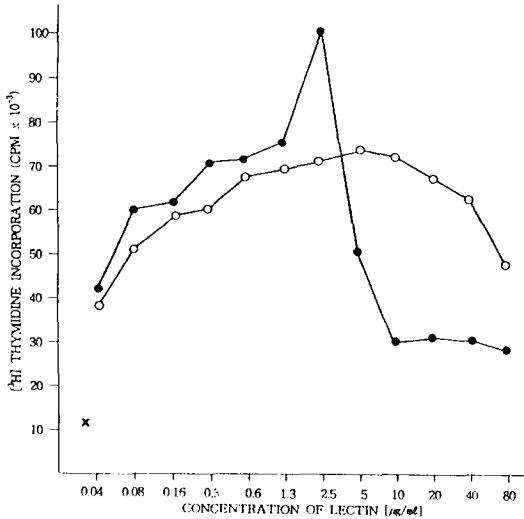


Fig. 3 — Dose-response curves of rat splenic lymphocytes culture stimulated with *Lentinus edodes* lectin and Con A. 0.05 M fraction of hydroxyapatite: ●—●—●. Con A: ○—○—○. Control: X.

때 활성도는 약 0.4 mg/ml에서 최대를 나타낸 적이 있었다. 본 실험에서는 흰쥐 비장 림프구를 대상으로 활성도를 측정하였을 때 널리 알려진 mitogen인 Con A를 비교 시료로하여 함께 측정한 결과, Con A는 5 mg/ml에서, 표고버섯 렉틴은 2.5 mg/ml에서 최대의 활성도를 나타내었으며(Fig. 3). 한편 사람 말초 혈액 림프구에 대해서는 Fig. 4 에서와 같이 표고버섯렉틴과 Con A가 모두 같은 농도(1.2 mg/ml)에서 최대의 mitogenic activity를 나타냈다. 림프구의 증식 정도도 표고버섯 렉틴과 Con A가 거의 비슷하였으며, 두 렉틴

Table II — Specificity of *Lentinus edodes* lectin on agglutination of erythrocytes from various animals

Species	Cell agglutinating activity(HU)	
	Untreated	Trypsinized
Human A Type	0	
B	0	
O	0	0
AB	0	0
Rabbit	32	0
Mouse	32	0
Rat	64	64
Dog	0	32
Chicken	0	

(HU): Hemagglutination unit

Table III — Amino acid composition of *Lentinus edodes* lectins

Amino acid	Crude lectin		0.05 M Fraction of DEAE Sephadex A-50		0.05 M fraction of hydroxyapatite	
	amount(nm)	%	amount(nm)	%	amount	%
Asp	6.24	6.2	18.9	12.5	ND	
Thr	ND		15.4	10.2	ND	
Ser	6.09	6.1	14.7	9.2	40.8	17.2
Glu	ND		17.7	11.7	29.4	12.4
Pro	16.7	16.7	8.5	5.6	71.9	30.4
Gly	ND		14.3	9.4	ND	
Ala	12.7	12.7	13.9	9.2	23.1	9.8
Cys	10.5	10.5	ND		9.4	4.0
Val	17.4	17.4	7.0	4.6	8.5	3.6
Met	ND		ND		ND	
Iso	8.48	8.5	4.4	2.9	4.4	1.9
Leu	0	0	10.9	7.2	13.7	5.8
Tyr	0	0	3.4	2.2	4.8	2.0
Phe	4.06	4.1	6.5	4.3	10.1	4.3
His	6.27	6.3	2.1	1.4	1.7	0.7
Lys	4.92	4.9	6.4	4.2	6.6	2.8
Arg	6.56	6.6	7.6	5.0	12.2	5.2
Total amino acid amount	99.92(nm)		151.7(nm)		236.6(nm)	

Aspartic acid = Asp + Asn. Glutamic acid = Glu + Gln, ND: Not detected.

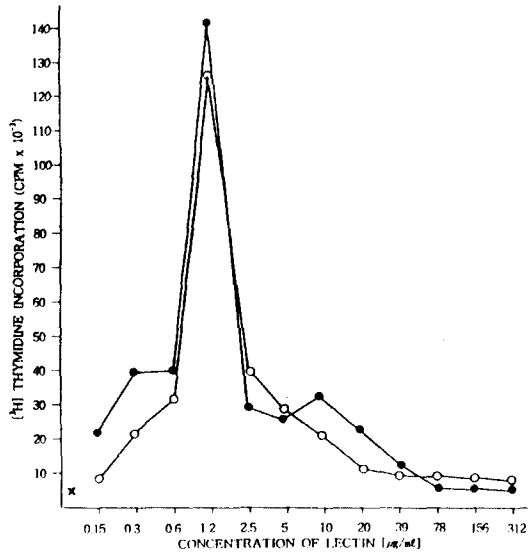


Fig. 4 - Dose-response curves of human lymphocytes culture stimulated with *Lentinus edodes* lectin and Con A.
0.05 M fraction of hydroxyapatite: ●-●-●, Con A: ○-○-○, Control: X

모두 최대 활성도를 나타낸 그 이상의 농도에서는 림프구 자극 분열 효과가 감소되었는데 이는 렉틴의 독성이 림프구를 파괴시키기 때문인 것으로 관찰되었다. 한편 최대 활성 효과를 보이는 농도는 실험 대상 동물에 따라서 약간씩 차이가 있는 것도 관찰되었는 바 이는 종에 따라 렉틴에 자극되어 반응하는 림프구의 약물 감수성이 약간씩 차이가 있다는 것을 시사하는 것이었다. 한편 *Lactarius subzonarius*¹⁴⁾ (80 mg/ml), *L. piperatus*²²⁾ (LPA: 2 mg/1 ml, LPB: 21 mg/ml)와 *Russula cutrefracta*¹⁴⁾ (160 mg/ml) 등의 결과를 표고버섯 렉틴과 비교해 볼 때 표고버섯 렉틴은 쥐과 동물 및 사람 림프구에 대한 자극 분열 효과가 가장 우수하다는 것을 확인할 수 있었다.

암 세포 응집효과 - 렉틴은 어떤 종류의 암세포를 응집시키는 능력을 가지고 있는데 암 세포와 정상 세포의 차이점은 세포 표면에 있다고 믿고 있던 Aub³¹⁾가 wheat germ에서 분리한 lipase를 연구하던 중, 우연히 렉틴에 의한 암 세포의 응집 현상을 관찰하였고, Lis와 Sharon²³⁾이 soy bean 렉틴으로 같은 현상을 관찰하였다. 또한 Olsnes³²⁾ 등은 abrin에 민감한 parent cell에서 생긴 tumor는 abrin에 의해 암 세포 성장 저해 효과를 나타냈으나 abrin 저항 세포에서 유도된 tumor는 ab-

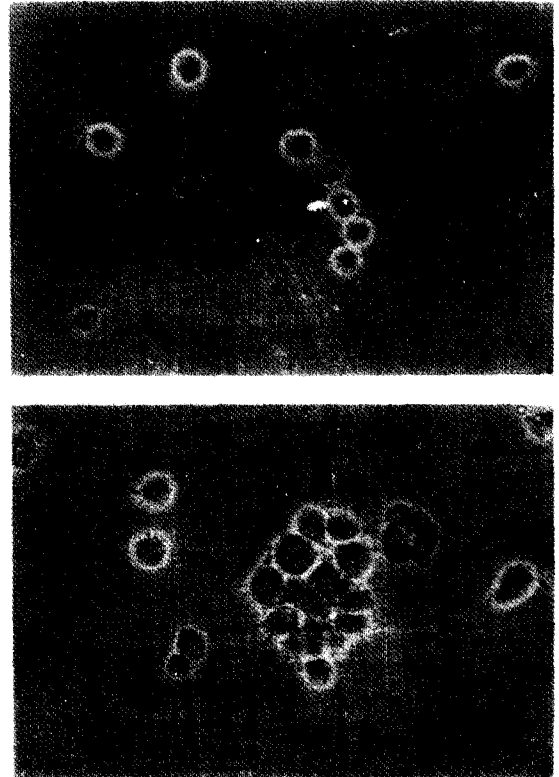


Fig. 5 - A: Light photomicrograph of HeLa cells of control group. Magnification, x700
B: Light photomicrograph of HeLa cells cultured for 4 hours after administering the lectin from *Lentinus edodes*. Magnification, x700

rin을 가하여도 효과가 없음을 관찰하였다. 이로써 abrin이 암 세포의 성장을 저해할 수 있다는 것이 밝혀졌으며, 실제로 abrin과 ricin 등은 어떤 암 세포에 대해서 현재 암 치료에 이용되고 있다.³³⁾ 표고버섯 렉틴의 암 세포 응집 효과를 알아보기 위해서 HeLa, L1210 등의 cell line에 표고버섯 렉틴을 첨가했을 경우 모두 응집 반응을 나타내었고 (Fig. 5, 6), 광학 현미경 상에서 저배율 및 고배율로 관찰하였을 때 대조군과 뚜렷한 차이를 나타내며 응집 현상이 관찰되었으므로 이로써 암 세포 증식 저지 효과를 유추할 수 있었다.

결 론

본 연구에서는 표고렉틴이 최종 정제단체인 hydroxyapatite chromatography를 거친 후에는 40.4배 정

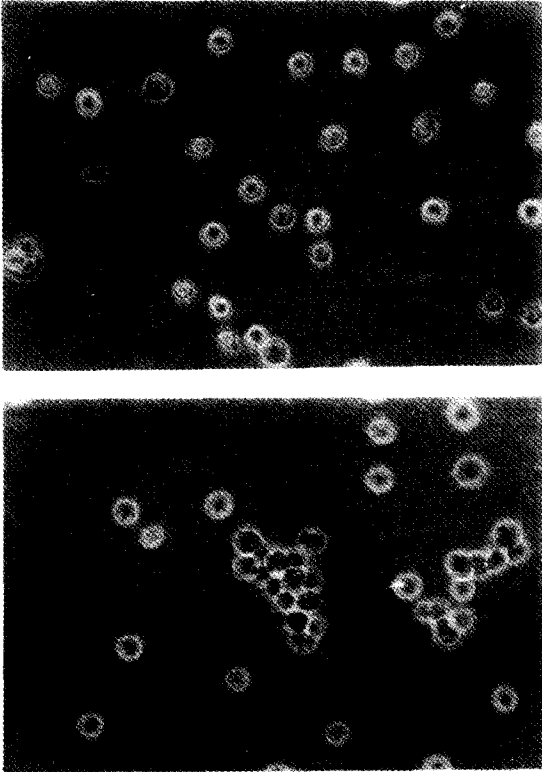


Fig. 6—A: Light photomicrograph of L1210 cells of control group. Magnification, $\times 700$
 B: Light photomicrograph of L1210 cells cultured for 4 hours after administering the lectin from *Lentinus edodes*. Magnification, $\times 700$

제되었고 1.4% 회수되었다는 것을 확인하였으며, 전기영동한 결과 인접한 4개의 band를 확인하여 부분 정체되었음을 확인하였다. 설치류인 생쥐, 흰쥐, 토끼의 적혈구와 응집현상을 나타내었으나 사람 적혈구에 대해서는 응집현상이 없어 독성이 없음을 입증할 수 있었다. 한편 생쥐, 흰쥐 및 사람 림프구 모두에 대해서 자극 분열 효과가 확인되었는데, 이는 널리 알려진 대표적인 mitogen인 Con A와 비슷한 농도에서 활성이 나타났으며 세포증식 정도도 비슷하게 나타남으로써 그 우수성을 알 수 있었다. 한편 두 종류의 암 세포(L 1210, HeLa cell)등에 대해서도 응집원으로서 작용하여 암 세포 증식 저지 효과를 시사하였다.

감사의 말씀

본 연구는 1992년도 한국과학재단 연구과제(92-

0400-016-2) 연구비 지원으로 수행된 것이기에 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Kim, B. K., Park, E. K. and Shim, M. J. Studies on the constituents of higher fungi of Korea(XXIII). Antineoplastic activities of *Coriolus versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes*. *Arch Pharm. Res.*, **2**, 145. (1979).
- 2) Kim, B. K., Sung, E. and Choi, E. C. Studies on antitumor constituents of higher fungi of Korea. *Proc. Symp. Recent Adv. Natural Prod. Res., Seoul*, **141**, (1989).
- 3) Chung, K. S. Studies on the constituents of the higher fungi of Korea(II). The antitumor components and culture of *Lentinus edodes*. *Kor. J. Mycol.*, **10**, 33. (1982).
- 4) Chung, K. S., Choi, E. C., Kim, B. K., Kim, Y. S. and Park, Y. H. Studies on the constituents and culture of Korean basidiomycetes. antitumor polysaccharides from the mycelia of some basidiomycetes. *Arch. Pharm. Res.*, **5**, 17. (1982).
- 5) Kim, S. H., Woo, M. S. and Kim, B. K. Studies on constituents of higher fungi of Korea(XXXV). antitumor components extract from the carphores and cultured mycelia of *Laccaria laccata*. *Kor. J. Mycol.*, **10**, 155. (1982).
- 6) Goldstein, I. J., Hughes, R. C., Monsigny, M., Osawa, T. and Sharon, N. What should be called a lectin?. *Nature* **285**, 66. (1980).
- 7) Dixon, H. B. F. Defining a lectin. *Nature* **292**, 192. (1981).
- 8) Nomenclature Committee of IUB-IUPAC joint commission and biochemical nomenclature What is a lectin?. *J. Biol. Chem.*, **256**, 12. (1981).
- 9) Liener, I. E., Sharon, N. and Goldstein, I. J. in The lectin: Properties, function and application in biology and medicine. *Academic Press, New York*, pp. **1**, (1986).
- 10) Sage, H. J. and Vazquez, J. J. Studies on a hemagglutinin from the mushroom *Agaricus campestris*, *J. Biol. Chem.*, **242**, 120. (1967).
- 11) Sueyoshi, S., Tsuji, T. and Osawa, T. Purification and characterization of four isolectins

- of mushroom (*Agaricus bisporus*). *Biol. Chem., Hoppe-Seyler*, **366**, 213, (1984).
- 12) Guillot, J., Genaud, L., Gueugnot and Damez, M. Purification and properties of two hemagglutinins of mushroom *Laccaria amethystina*. *Biochemistry*, **22**, 5365. (1983).
 - 13) Jeune, K. H. and Chung, S. R. Studies on lectins from mushrooms(I): Isolation of lectin-like agglutinins from mushroom, *J. Natural Sciences*, **6**, 219, (1986).
 - 14) Jeune, K. H., Kim, M. K. and Chung, S. R. Studies on lectins from mushrooms(II): Screening of bioactive substance, lectins, from Korean wild mushrooms, *Yakhak Hoeji*, **31**, 213, (1987).
 - 15) Jeune, K. H., Kim, M. K. and Chung, S. R. Studies on lectins from Korean higher fungi(III). Proceedings of Int. Symp. on New Drug Development from Natural Products, Kor. Soc. *Pharmacogn.*, **32**, (1989).
 - 16) Jeune, K. H., Moon, I. J., Kim, M. K. and Chung, S. R. Studies on lectins from Korean higher fungi(IV). A mitogenic lectin from the mushroom *Lentinus edodes*, *Planta Med.*, **56**, (1990).
 - 17) Chihara, G., Hamuro, T., Maeda, Y. and Fukuoka, F. Fractionation and purification of the polysaccharide with marked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes*, *Cancer Res.*, **30**, 2776, (1970).
 - 18) Maeda, Y. and Chihara, G. Lentinan, a new immunoaccelerator of cell mediated responses, *Nature*, **229**, 1971, (1970).
 - 19) Monsigny, M., Kieda, C. and Roch, A. C. Membrane lectins. *Biol. Cellulaire* **36**, 289, (1978).
 - 20) Bernardi, G. Chromatography of proteins on hydroxyapatite, in *Methods in Enzymology*, Academic Press, *New York*, **22**, 325, (1971).
 - 21) Davis, B. J. Disc electrophoresis II, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 404, (1964).
 - 22) Chung, S. R., Jeune-Chung, K. H. and Kim, K. A. Isolation, purification and characterization of phytohemagglutinating proteins from Korean natural products. *Arch. Pharm. Res.*, **3**, 31, (1980).
 - 23) Lis, H. and Sharon, N. Lectins: Their chemistry and application to immunology, in *The Antigens*, Sela, M. ed., *Academic Press, New York*, pp **429**, (1977).
 - 24) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, J. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265, (1951).
 - 25) Wysocki, L. J. and Sato, V. L. "Panning" for lymphocytes: A method for cell selection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **75**, 2844, (1978).
 - 26) Mishell, B. B., Shiigi, S. M., Henry, C., Chan, E. L., North, J., Gallily, R., Slomich, M., Miller, K., Marbrook, J., Parks, D. and Good, A. H. Preparation of mouse cell suspensions in selected methods. in *Cellular Immunology*, Mishell and Shiigi(eds), *Freeman Co., San Francisco*, **3**, (1980).
 - 27) Callard, R. E., Shields, J. S. and Smith, S. H. Assay for human B cell growth and differentiation factors. in *Lymphokines and Interferons*, Clemens, Morris and Gearing(eds), *IRL Press, Oxford*, **345**, (1987).
 - 28) Ly, I. A. and Mishell, R. I. Separation of mouse spleen cells by passage through columns of Sephadex G-10. *J. Immunol. Methods* **5**, 239, (1974).
 - 29) Peacock, J. E. and Tomar, R. H. in *Manual of Laboratory Immunology*. Peacock and Tomar (eds), *Lea and Febiger Publication, Philadelphia*, **1**, (1980).
 - 30) Kim, M. K. Studies on lectins from Korean higher fungi "Isolation, purification and biochemical properties of lectins from *Lactarius piperatus*" Ph. D. Thesis, *Yeungnam University.*, **1**, (1990).
 - 31) Aub, T. C., Tieslau, C. and Lankester, A. Reaction of normal and tumor cell surfaces to enzyme, I. Wheatgerm lipase and associated mucopolysaccharide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **50**, 613, (1963).
 - 32) Olsnes, S. and Pihl, A. Toxic lectins and related proteins. in *Molecular action of toxins and viruses*. Cohen and Von Heyningen ed., *Elsevier Biomedical Press*, **51**, (1982).
 - 33) Chung, S. R. and Jeune, K. H. Lectins., Review of Biochem., *Biochem. Soc. Kor.*, **1**, **371**, (1986).