

토마토 Locular Fluid Lectin의 생화학적 성질

† 노 광 수

계명대학교 생물학과

(접수 : 2007. 9. 11., 게재승인 : 2008. 2. 19.)

Biochemical Properties of Locular Fluid Lectin of Tomato

Kwang Soo Roh†

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

(Received : 2007. 9. 11., Accepted : 2008. 2. 19.)

Lectin was isolated from locular fluid of tomato by affinity chromatography using Sephadex G-200, and studied its some biochemical properties. SDS-PAGE of the isolated lectin revealed a tetramer composed of two identical subunits with molecular weights of 39 and 23 kDa. The isolated lectin was agglutinated by trypsin-treated human ABO type blood erythrocytes with similar potency, and the most activity of agglutination was found at B type blood erythrocyte. This lectin showed maximum thermal stability at 70°C, and was relatively stable to heat with the higher activity at 40-80°C. The optimal temperature and pH of this lectin were 50°C and pH 7.0, respectively.

Key Words : Hemagglutination activity, locular fluid lectin, tomato

서 론

토마토는 가지 科의 1년생 채소로서, 남아메리카의 서부 고원 지대가 원산지이다. 열매의 형태는 구형 또는 타원형으로서, 품종에 따라 크기가 다양하고 색깔은 적색, 분홍색 및 노란색 등이 있으며, 종자는 매우 작다. 최근에는 지름 2~3cm의 붉은색이나 노란색의 열매가 송이로 열리는 품종과 달걀 및 서양 배 모양의 소형 열매 품종이 농가에 보급되고 있다.

토마토의 열매는 주로 생식용으로 사용되나, 주스, 쥬스, 케첩 및 각종 통조림 등 가공용에도 많이 쓰인다. 토마토 열매는 다이어트 등에 효과가 있는 건강식품으로서, 특히 갱년기 여성에게, 또한 암, 당뇨, 골다공증 및 치매 예방에 효과가 있다. 성분은 95%가 수분이며, 단백질 0.7%, 지방 0.1%, 탄수화물 3.3%, 셀룰로오스 0.4%, 회분 0.5%가 들어 있다. 이외에 카로틴, 비타민 C, 비타민 B 그리고 미네랄, 칼륨, 인, 망간, 루틴 및 니아신 등도 함유되어 있다.

Lectin은 식물계, 미생물계 및 하등 척추동물에서 발견되며, 식물 중에는 특히 콩과식물에 다량으로 들어 있다(1). 식물에서는 항체 대신 자기방어 기작으로 생성되는 물질로(2), 세포막

표면의 당과 결합하여 적혈구나 다른 여러 종류의 세포들을 응집시키는 성질을 가지고 있는 탄수화물 결합 단백질이다(3, 4).

토마토 lectin은 동량의 단백질과 탄수화물이 함유된(5) cysteine-rich chitin-binding domain과 hydroxyproline-rich glycoprotein domain의 두 domain로 구성되어 있는 chimeric protein으로서(6), 탄수화물 중에는 arabinose (85%)와 galactose (15%)가 많이 존재하고, 단백질 중에는 hydroxyproline (16%)과 cysteine (11%)이 존재하는 반면, valine과 leucine은 존재하지 않는다는 사실이 밝혀졌다(7).

식물 lectin이 가지고 있는 많은 생리·생화학적 역할 중에서 중요한 기능은 방어기작에 관여하는 방어단백질이라는 것이다(8). 이를 이용하면 살충제나 살균제로 사용될 수 있다. 토마토의 어느 부분에 방어단백질로서의 기능을 가지는 lectin이 많이 존재하는지 알기 위해 적혈구의 응집반응을 측정 한 결과, locular fluid 부분에서 가장 높은 응집반응을 보였다. 따라서 본 연구에서는 토마토의 locular fluid에서 분리된 lectin의 분자량, 적혈구 응집력, 혈액특이성, 열안정성, 온도 및 pH의 생화학적 성질을 조사하였다.

재료 및 방법

식물재료

본 실험에 사용된 재료는 시장에서 구입한 토마토(*Lycopersicon*

† Corresponding Author : Department of Biology, Keimyung University, 1000 Sindang-Dong, Dalseo-Gu, Daegu 704-701, Korea
Tel : +82-53-580-5207, Fax : +82-53-580-5164
E-mail : rks@kmu.ac.kr

esculentum)로서, locular fluid 부분을(Fig. 1) lectin의 분리와 생화학적 성질의 규명에 사용하였다.

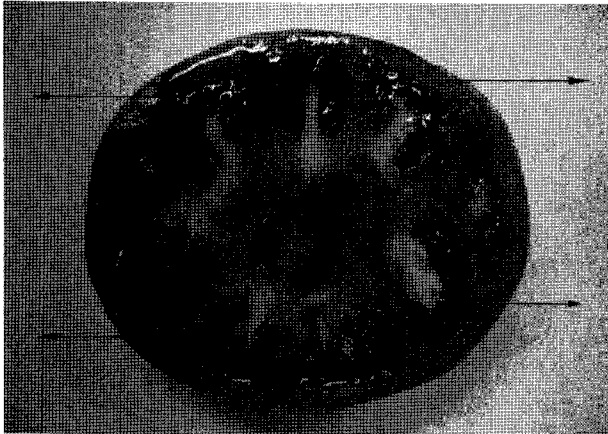


Figure 1. Cross section structure of tomato. Arrows (→) indicate the locular fluid.

Locular fluid lectin의 분리

Kilpatrick(9)의 방법을 변형하여 lectin을 분리하였으며, 모든 정제과정은 4℃에서 수행하였다. 토마토에서 locular fluid를 적출하여 1,000 g에서 10분간 원심분리 한 후, 상등액에 동량의 0.15 M-NaCl/0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.0)를 넣어 교반시켰다. 여기에 최종 농도가 50%가 되게 (NH₄)₂SO₄를 천천히 넣어 용해시켜 밤새 교반한 후, 40,000 g에서 1시간 원심분리 하였다. Neutral saline (Na₂HPO₄를 사용하여 pH 7.0으로 조절된 0.9% NaCl) 용액으로 침전물을 용해시킨 후, neutral saline을 24시간 마다 교환하면서 48시간 투석시켰다.

Neutral saline으로 평형시킨 Sepadex G-200을 column (2.5 × 36 cm)에 충전하고 투석된 용액을 column에 주입한 다음, neutral saline을 사용하여 1분당 0.3 mL의 유속으로 각 분획 당 2 mL를 용출시켜 분획하였다. 각 분획은 280 nm에서 흡광도를 측정하여 단백질 농도를 측정하였으며, lectin의 활성은 2% 적혈구를 사용한 혈구 응집반응으로 측정하였다. 가장 높은 활성을 지닌 분획을 생화학적 특징에 대한 연구에 사용하기 위해 4℃ 이하에 보관하였다.

SDS-PAGE에 의한 분자량 측정

Laemmli(10)의 방법에 따라, 20% SDS-polyacrylamide gel을 사용하여 40 mA에서 18시간 동안 전기영동하였다. 그 후 gel은 Coomassie brilliant blue R-250으로 염색을 하였으며 7.5% acetic acid로 탈색시켰다.

Weber와 Osborn(11) 방법에 따라 분자량을 측정하였다. 전기영동한 lectin과 표준 단백질에 대한 상대이동도(Rf)와 단백질 분자량에 대한 대수값으로 분자량을 구하였으며, 이때 표준 단백질은 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)를 사용하였다.

적혈구 응집력 측정

Takatsy(12)의 방법을 변형시켜 적혈구 응집반응을 측정

하였다. Microtiter plate의 각 well에 25 μl neutral saline (pH 7.0)과 분리된 lectin 추출액 25 μl를 첨가하여 2배수 희석법으로 희석한 다음, trypsin을 처리한 적혈구 용액 25 μl를 가하여, 37℃에서 15분 반응시킨 후, 적혈구의 응집 여부를 육안과 광학현미경을 이용하여 확인하였다. 혈액 응고를 방지하기 위해 heparin을 처리한 혈액에 0.9% NaCl이 함유된 neutral saline으로 만든 0.25% trypsin으로 2% 적혈구 부유액을 만들어 이를 혈구응집반응에 사용하였다. Lectin의 활성은 혈구의 최종 응집을 나타내는 최종 희석 배수를 역수로 하여 응집력 단위로 나타내었다.

혈액의 특이성과 응집반응 정도

정제된 lectin을 neutral saline(pH 7.0)으로 2배수 희석 한 다음, 사람의 A, B, O, AB형 혈액으로부터 얻은 적혈구를 사용하여 각각의 혈구응집반응을 확인함으로써 어느 형의 혈액에 특이적으로 반응하는지와 이들의 응집반응 정도를 측정하였다.

최적 반응온도의 측정

정제된 lectin의 최적 반응 온도를 조사하고자 온도 변화에 따른 활성을 측정하였다. 정제된 lectin을 2배수로 희석하였고 최대 희석 배수를 100%의 residual activity로 하였다. 항온수조에서 20-70℃ 사이의 각 온도에서의 혈구 응집 반응을 측정하여 잔존하는 상대적인 lectin의 활성을 조사하였다.

열 안정성 측정

열안정성을 조사하기 위해 20-90℃ 사이의 각 온도에서 10 분간 열처리한 후, 식힌 다음 혈구 응집 반응을 이용하여 잔존하는 상대적인 lectin의 활성을 조사하였다.

pH 안정성 측정

pH 변화에 따른 lectin의 활성을 조사하기 위해서 pH 2.0-10 사이 buffer를 사용하여 4℃에서 4시간 투석시킨 후, 혈구 응집 반응을 이용하여 잔존하는 상대적인 lectin의 활성을 조사하였다. 이때 사용한 완충용액은 0.025 M glycine-HCl buffer (pH 2.2), 0.2 M acetate buffer (pH 3.2, 4.2), 0.1 M phosphate buffer (pH 6.2, 7.0), 0.1 M Tris buffer (pH 8.0, 9.1), 0.1 M sodium carbonate-bicarbonate buffer (pH 10)이다.

결 과

Locular fluid lectin의 분리

토마토의 locular fluid로부터 최종적으로 affinity chromatography에 의해 lectin을 neutral saline으로 유출시켜 분리하였다. 21~39번 분획에서 단백질이 검출되었으나, 이중 24~30 분획에서 활성이 측정되었으며, 단백질 함량과 활성이 가장 높게 나타난 분획은 27번이었다(Fig. 2). 따라서 이 분획을 사용하여 lectin의 분자량, 적혈구 응집력, 혈액 특이성, 최적 반응 온도, 열 안정성 및 pH 안정성을 측정하였다.

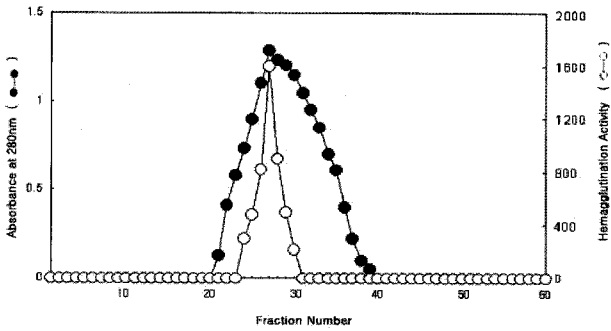


Figure 2. Elution profile for protein (●) and hemagglutination activity of lectin (○) isolated from locular fluid of tomato by affinity chromatography on Sephadex G-200.

SDS-PAGE에 의한 lectin의 분자량

분리된 lectin을 SDS-PAGE를 한 결과, 2개의 band로 나타났다(Fig. 3). 2개의 band에 대한 분자량을 측정한 결과, 39 kDa와 23 kDa의 분자량(Fig. 4)을 가지고 있다. 따라서 locular fluid lectin은 각각 2개의 subunit로 구성된 124 kDa의 분자량을 가지는 tetramer이다.

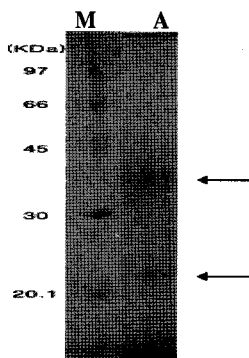


Figure 3. 20% SDS-PAGE of lectin isolated from locular fluid of tomato. The gels were run at 40 mA for 18 hr and stained with Coomassie brilliant blue R-250. Arrows indicate lectin isolated by affinity chromatography on Sephadex G-200. Lane : M, molecular weight markers; A, purified lectin. The molecular 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).

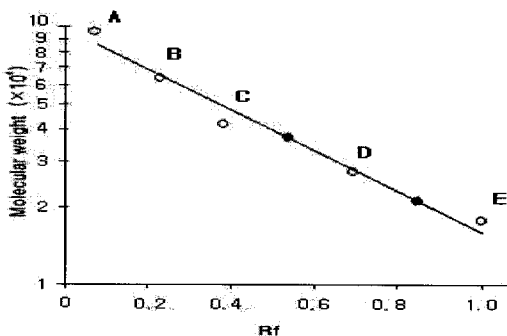


Figure 4. Determination of molecular weight of lectin isolated from locular fluid of tomato on SDS-PAGE. Closed black circles (●) indicate lectin isolated by affinity chromatography on Sepadex G-200. The molecular weight markers were rabbit muscle phophorylase b (A, 97 kDa), bovine serum albumin (B, 66 kDa), chicken egg white ovalbumin (C, 45 kDa), bovine erythrocyte carbonic anhydrase (D, 30 kDa), soybean trypsin inhibitor (E, 20.1 kDa).

혈액의 특이성과 응집반응 정도

정제된 lectin을 neutral saline(pH 7.0)으로 2배수 희석한 다음, trypsin이 처리된 사람의 A, B, O, AB형 혈액의 적혈구를 사용하여 각각의 혈구응집반응을 확인한 결과, A, B, O, AB형 모두에서 응집반응이 일어났다(Figure 5).

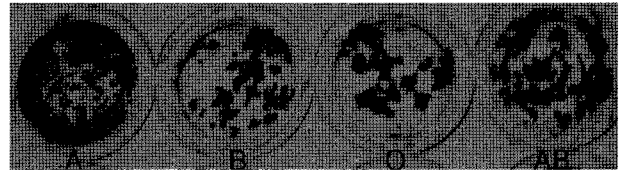


Figure 5. Hemagglutination activity of human A, B, O and AB type.

각 혈액형에 따라 응집반응의 정도를 알기위해 4개 혈액형에 대한 활성을 측정한 결과, B형 혈액의 적혈구에서 100%로 가장 높은 활성을 나타냈으며, A와 O형에서는 50%의 활성을 보였으며, AB형에서는 33%로 가장 낮은 활성을 보였다(Table 1). 그러나 trypsin을 처리하지 않은 4개의 혈액형에 대해서는 전혀 응집반응을 나타내지 않았다(미계재). 따라서 trypsin을 처리한 B형 적혈구를 사용하여 최적 반응온도, 열 안정성 및 pH 안정성을 측정하였다.

Table 1. Hemagglutinating activity of human erythrocyte by locular fluid lectin of tomato

Human erythrocytes	Residual activity (%)
A	50
B	100
O	50
AB	33

Lectin의 최적 반응 온도

Lectin의 활성 능에 대한 최적 반응온도를 알아내기 위해 20-70℃의 온도 범위에서 10분간 반응시켜 활성을 측정 한 결과, 분리된 lectin의 안정적인 반응온도는 40-60℃이며, 50℃에서 100%의 가장 높은 활성을 나타내었다. 40℃ 이하와 60℃ 이상에서는 활성이 감소하였다(Fig. 6).

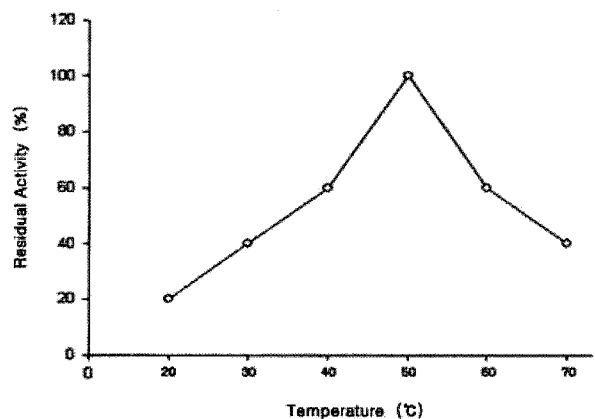


Figure 6. Effect of temperature on the activity of lectin isolated from locular fluid of tomato. The lectin activity was tested by incubation at 20-70℃.

Lectin의 열 안정성

Lectin의 열 안정성을 측정하기 위하여 20-90℃에서 각각 10분간 열처리한 다음, 적혈구 응집반응으로서 활성을 측정한 결과, lectin은 40-80℃까지는 비교적 열안정성을 가졌으며, 70℃에서 가장 높은 활성을 나타내었고, 20℃ 이하와 90℃이상의 온도에서는 활성이 현저히 떨어져 혈구 응집반응을 보이지 않았다(Fig. 7).

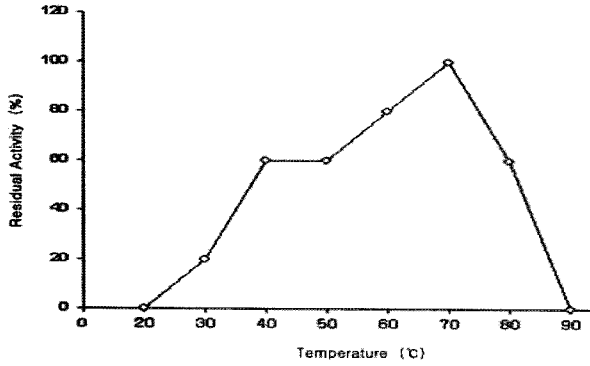


Figure 7. Thermal stability of lectin isolated from locular fluid of tomato.

Lectin의 pH 안정성

Lectin의 pH에 대한 안정성을 조사하기 위해 정제된 lectin을 pH 2.0-10에서 4시간 투석 처리한 후 적혈구 응집 반응을 통한 활성을 측정한 결과, phosphate buffer를 사용한 pH 7.0에서 활성이 가장 높았으며, acetate buffer를 사용한 pH 4.2 이하와 Tris buffer를 사용한 pH 8.0 이상에서는 활성이 현저히 떨어졌다. 따라서 lectin은 pH 6.0 이상의 약한 산성에서부터 pH 8.0 이하의 약한 알칼리성에서는 안정성이 강한 것을 알 수 있었다(Fig. 8).

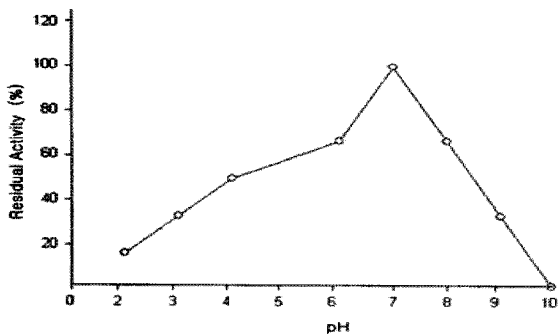


Figure 8. The pH stability of lectin isolated from locular fluid of tomato. Purified lectin was dialysed in different pH for 4 hr at 4℃. Residual activity was compared to that of the observed standard condition using 0.01 M phosphate buffer (pH 7.0).

고 찰

토마토의 여러 부분에 대해 lectin에 대한 적혈구의 응집 반응을 예비 실험을 통해 측정한 결과, locular fluid 부분에서 가장 높은 응집반응을 보였기 때문에, 본 연구에서는 토마토의 locular fluid 부분을 재료로 하여 lectin을 분리하고, 이의

생화학적 성질을 사람의 B형 혈액의 적혈구를 사용하여 연구하였다.

Lectin에 대한 일련의 연구에서 탄수화물의 특이성을 이용하는 방법으로서 강낭콩 유식물로부터 lectin의 분리에는 Sephadex G-100을 사용하여 glucose로 용출시켰으나(13), 본 연구에서는 최종과정인 affinity chromatography에 Sephadex G-200을 사용하였으며, 이때 neutral saline으로 용출시켜 lectin을 분리하였다.

Lectin의 분자량은 20 kDa부터 120 kDa까지 다양하며, dimer 또는 tetramer의 형태로 존재한다(14). 대두 종자(15)와 *Talisia esculenta* 종자 lectin(16)은 각각 28과 30 kDa, 그리고 20과 40 kDa로서 2개의 band인 반면, *Dioclea altissima* 종자 lectin은 각각 26, 15, 9 kDa의 분자량을 가지는 3개의 band로 나타났다(17). 토마토 종자(18)와 방울토마토 열매(19)로부터 분리된 lectin의 분자량은 각각 12 kDa와 10.7 kDa로 저분자량이나, 본 연구의 토마토 locular fluid lectin은 39 kDa와 23 kDa의 분자량을 가지는 2개의 band로 나타났으며, 각각 2개의 subunit가 S-S 결합으로 연결된 124 kDa의 tetramer lectin이다. 작두콩의 shoot lectin은 29와 22 kDa의 분자량을 가진 102 kDa로서(20), 본 연구의 토마토 locular fluid lectin과는 분자량이 다르나 전체 4개의 subunit로 구성된 tetramer로서는 같다. 본 연구 결과와는 달리, *Trichosanthes anguina* 종자(21)와 *Kalanchoe crenata* 잎에서 분리한 lectin(22)은 각각 45 kDa와 44 kDa로서 monomer이다. 이러한 결과들은 lectin의 분자량이 식물의 종, 기관 및 조직에 따라 다르다는 것을 의미한다.

동일한 식물의 추출물을 서로 다른 종류의 적혈구에 반응시켰을 때 응집활성이 다르며, 어떤 종자에는 사람의 적혈구 항원에 특이적인 agglutinin이 포함되어 있다(23). Lectin은 적혈구와 응집 능력이 있는 탄수화물 결합 단백질이기 때문에(24), lectin의 활성 측정에 적혈구의 응집 반응을 이용한다. 본 연구에서 적혈구의 응집 여부를 육안으로 확인한 후, 현미경을 사용하여 더 이상 응집반응이 일어나지 않는 비응집 반응 점을 측정하였다. Trypsin을 처리한 사람의 A, B, O, AB형 혈액의 적혈구를 사용하여 각각의 혈구응집반응을 확인한 결과, A, B, O, AB형 모두에서 응집반응이 일어났으며, 이 중 B형 혈액에서 가장 높은 활성, A와 O형은 중간, 그리고 AB형은 가장 낮은 활성을 보였다. 이는 방울토마토 열매에서의 결과(19)와 일치하였다. 본 연구 결과와 같이 *Artocarpus incise*(25)와 *Dioclea reflexa*(26) 종자 lectin은 모든 사람의 적혈구에 응집반응이 일어난다. Nachbar와 Oppenheim(7)은 사람의 ABO 혈액 외에도 생쥐와 양의 적혈구에 의해서도 응집반응이 일어난다고 보고한 반면, Higuchi와 Iwai(27)는 winged bean 종자 lectin은 토끼의 적혈구와 사람의 혈액 중에서 O형을 제외한 나머지 적혈구에서 모두 반응이 일어난다고 보고하였다. 작두콩 종자(28)와 강낭콩 유식물(13) 및 *Neoregelia flandria* 잎(29)에 존재하는 lectin은 토끼의 적혈구에는 응집반응이 일어나나 사람의 혈액형에는 반응이 일어나지 않으며, 튜립 구근 lectin은 생쥐와 쥐 적혈구에만 응집반응이 일어난다(30). 이와 같이 혈액형에 따라 응집반응이 다르다는 것은 혈액에 대한 종 특이성이 있음을 의미한다.

Lectin 활성의 최적 반응 온도를 알아내기 위해 20-70°C의 범위에서 활성을 측정된 결과, 안정적인 반응온도는 40°C-60°C이며, 50°C에서 가장 높은 활성을 나타내었다. 30°C 이하와 70°C 이후에는 활성이 감소하였다. 이는 30-50°C로서 최적 반응온도가 40°C인 방울토마토 열매 lectin(19)과 비슷한 온도 범위를 보였다. 이와 같이 토마토 locular fluid lectin과 방울 토마토 열매 lectin은 40°C 이상에서 불안정한 다른 lectin들(31)과는 달리 40°C-60°C 범위에서 안정하였다. *Dioclea altissima* 종자 lectin은 80°C에서 안정하다고(17) 하였으나, *Zizyphus mauritiana* 종자 lectin에서는 80°C 이상의 온도에서 완전하게 활성이 상실되었다고 보고하여(32), 본 연구의 결과와 많은 차이점을 보였다.

열 안정성 조사에 대한 본 연구에서 40°C-80°C까지의 온도에서는 비교적 안정적이었으며, 70°C에서 가장 안정하였다. 80°C 이상에서는 활성이 현저하게 감소하여 90°C에서는 활성이 완전히 소멸되었으며, 20°C 이하에서도 같은 현상을 보였다. 방울토마토 열매 lectin은 40-60°C 범위에서 열에 대해 안정적이며 80°C에서는 완전히 상실되어(19), 토마토 locular fluid lectin 보다는 열안정성의 범위가 좁았다. Winged bean(27), 고무나무 껍질(33) 및 *Ptilota filicina* (34) lectin은 각각 50°C, 60°C 및 70°C에서 열에 대해 안정하였다. 단백질의 경우 높은 온도에서 쉽게 변성이 일어나지만, 본 연구의 토마토 locular fluid lectin은 온도의 범위가 넓어 비교적 열 안정성이 높은 단백질이라고 생각된다.

Lectin은 이온, 이온의 세기, pH에 의해 영향을 받는데(14), 본 연구의 토마토 locular fluid lectin은 pH 7.0에서 가장 안정하였다. pH 6.2-8.0까지는 비교적 안정적이었으며, pH 2.2와 pH 9.1에서도 약하게나마 반응을 보였으나 pH 10에서는 활성이 완전히 상실되었다. 이 결과로서 약산성, 중성, 약염기에서는 안정적이나, 강산성과 강알칼리성에서는 약한 단백질임을 알 수 있었다. 이는 방울토마토 열매에서 연구된 pH의 결과와 완전히 일치하였다(19). 또한 최적 pH가 7.2로 조사된 땅콩 뿌리 lectin(35)과 작두콩 lectin(28)과도 일치하였다. 그러나 *Zizyphus mauritiana* 종자 lectin(32)은 본 연구 결과와 같이 최적 pH는 같았으나, 안정적 범위는 본 연구 결과와 달리 6.0 이하와 8.0 이상에서 활성이 완전히 상실되었다. Winged bean lectin은 산성 및 pH 9.0까지 안정적이었으며(27), 겨우살이 lectin은 pH 4.0-7.0 사이의 약산성 및 중성에서 안정적 이었으나, pH 4.0 이하 및 9.0 이상에서는 75% 이상이 상실되었다(36).

요 약

토마토의 locular fluid로부터 최종적으로 Sephadex G-200 affinity chromatography에 의해 lectin을 분리한 다음, 이들의 분자량, 적혈구 응집력, 혈액특이성, 열 안정성, 최적 온도 및 pH 안정성의 생화학적 성질을 연구하였다. SDS-PAGE의 결과, 분자량이 39 kDa와 23 kDa로서 각각 2개의 subunit로 구성된 124 kDa의 분자량을 가지는 tetramer이다. 트립신으로 처리된 사람의 A, B, O, AB형의 혈액을 사용하여 각각의 혈구응집반응을 확인한 결과, A, B, O,

AB형 모두에서 응집반응이 일어났으며, 이 중 B형 혈액에서 가장 높은 활성을 나타냈으며, A와 O형은 중간, AB형은 가장 낮은 활성을 보였다. 분리된 토마토 locular fluid의 최적 반응 온도는 50°C로서, 가장 높은 70°C를 포함하는 40-80°C에서 열 안정성을 보였으며, 이의 최적 pH는 7.0이다.

REFERENCES

- Goldstein, I. and R. D. Poretz (1986), Isolation, physicochemical characterization, and carbohydrate-binding specificity of lectins. In *The lectins: Properties, Functions and Applications in Biology and Medicine*. I. E. Liener, N. Sharon, and I. J. Goldstein Eds.; Academic Press, New York, USA, pp233-245.
- Liener, I. E., N. Sharon and I. J. Golestein (1986), *Lectins: Properties and functions and applications in biology and medicine*. Academic Press, New York, USA, p1-60.
- Sharon, N. (1977), Lectins. *Sci. American* **236**, 108-119.
- Golestein, I. J., R. C. Hughes. M. Monsigny. T. Osawa, and N. Sharon (1980), What should be called a lectin? *Nature* **285**, 66-70.
- Nachbar, M. S., J. D. Oppenheim, and J. O. Thomas (1980), Isolation and characterization of a lectin from the tomato (*Lycopersicon esculentum*). *J. Biol. Chem.* **255**, 2056-2061.
- Naito, Y., T. Minamihara, A. Anodo, T. Marutani, S. Oguri, and Y. Nagata (2001), Domain construction of cherry-tomato lectin: relation to newly found 42-kDa protein. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **65**, 86-93.
- Nachbar M. S. and J. D. Oppenheim (1982), Tomato (*Lycopersicon esculentum*) lectin. *Methods Enzymology* **83**(Part D), 363-368.
- Peumans, W. J. and E. J. M. Van Damme (1995), Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiol.* **109**, 347-352.
- Kilpatrick D. C. (1980), Purification and some properties of a lectin from the fruit juice of the tomato. *Biochem. J.* **185**, 269-272.
- Laemmli, U. K. (1970), Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680-685.
- Weber, K. and M. Osborn (1969), The reliability of molecular weight determination by dodecyl-sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* **244**, 4406-4412.
- Takatsy, G. (1967), The use of a microtitrator in serological procedures. In *International Symposium on Immunological Method of Biological Study*. **4**, 275-280.
- Roh, K. S. (2007), Biochemical characterization of lectin purified from kidney bean seedling. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **22**, 53-57.
- 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.
- Grade, W., M. A. Jack, J. B. Dahl, E. I. Schmidt, and F. Wold (1981), The isolation and characterization of a root lectin from soybean (*Glycine max L.*) cultivar. *J. Biol. Chem.* **256**, 12905-12910.
- Freire, M. G. M. Das, V. M. Gomes, R. E. Corsini, O. L. T. Machado, S. G. De Simone, J. C. Novello, S. Marangoni, and M. L. R. Macedo (2002), Isolation and partial characterization of a novel lectin from *Talisia esculenta* seeds that interferes with fungal growth. *Plant Physiol. Biochem.* **40**, 61-68.
- Moreira, A. R., A. C. O. Monteiro, A. C. G. Horta, J. T. A. Oliveira, and B. S. Cavada (1997), Isolation and characterization of *Dioclea altissima* var. *Megacarpa* seed lectin. *Phytochem.* **46**, 139-144.
- Oguri, S., M. Y. Nagata, Y. S. Momonoki, and H. Kamimura (2003), Characterization and sequence of tomato 2S seed albumin: a storage protein with sequence similarities to the fruit lectin. *Planta* **216**, 976-984.

19. Park, N. Y., Lee, S. P. and K. S. Roh (2007), Biochemical characterization of lectin isolated from cherry tomato fruit. *J. Life Science*. **17**, 254-259.
20. Roh, K. S. and N. Y. Park (2005), Characterization of the lectin purified from *Canavalia ensiformis* shoots. *Biotechnol. Bioproc. Engineer*. **10**, 334-340.
21. Anuradha, P. and S. V. Bhide (1999), An isolectin complex from *Trichosanthes anguina* seed. *Phytochem*. **52**, 751-758.
22. Kuku, A. and O. B. Eretan (2004), Purification and partial characterization of a lectin from the fresh leaves of *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. *J. Biochem. Mol. Biol*. **37**, 229-233.
23. Ashwell, G., and J. Harford (1982), Carbohydrate-specific receptors of the liver. *Ann. Rev. Biochem*. **51**, 531-554.
24. Sharon, N. and H. Lis (1972), Lectins: Cell-agglutinating and sugar-specific proteins. *Science* **177**, 949-959.
25. Moreira, A. R., C. C. Castelo-Branco, A. C. O. Monteiro, R. O. Tavares, and L. M. Beltramini (1998), Isolation and partial characterization of a lectin from *Artocarpus incise* seed. *Phytochem*. **47**, 1183-1188.
26. Kuku, A., M. Stoppini, A. Cobianchi, G. Minetti, C. Balduini, and A. Aboderin (2000), The complete primary structure of a mannose/glucose specific lectin from the seeds of *Dioclea reflexa* (Hook, F.) *Nig. J. Biochem. Mol. Biol*. **15**, 115-119.
27. Higuchi, M. and K. Iwai (1985), Purification and some properties of the basic lectin from winged bean seeds. *Agric. Biol. Chem*. **49**, 391-398.
28. 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.
29. Yagi, F., M. Hidaka, Y. Minami, and K. Tadera (1996), A lectin from leaves of *Neoregelia flandria* recognizes D-glucose, D-mannose and N-acetyl D-glucosamine, differing from the mannose-specific lectins of other monocotyledonous plants. *Plant Cell Physiol*. **37**, 1007-1010.
30. Oda, Y., Minami, K., Ichida, S. and S. Aonuma (1987), A new agglutinin from *Tulipa gesneriana* bulbs. *Eur. J. Biochem*. **165**, 297-302.
31. Olsnes, S., F. Stripe, K. Sandvig, and A. Phil (1982), Isolation and characterization of viscum. A toxic lectin from *Viscum album* L. *J. Biol. Chem*. **257**, 13263-13270.
32. 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.
33. Wittsuwannakul, R. D., D. Wittsuwannakul, and C. Sakulborirug (1998), A lectin from the bark of the rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Phytochem*. **47**, 183-187.
34. Sampaio, A. H., D. S. J. Rogers, and C. J. Barwell (1998), A galactose-specific lectin from the red marine alga, *Ptilota filicina*. *Phytochem*. **38**, 281-285.
35. 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.
36. 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.