

## Aspergillus sp. LAM 94-142가 생산하는 세포응집물질의 특성

이동희\* · 함동수  
건국대학교 미생물공학과

### Characterization of a Cell Aggregation Factor from *Aspergillus* sp. LAM 94-142

Dong-Heui Yi\* and Dong-Soo Ham

Department of Microbiological Engineering, Kon-Kuk University, Seoul 133-701, Korea

**Abstract** — A cell aggregation factor produced by *Aspergillus* sp. LAM 94-142 was purified and partially characterized. The factor was purified about 15 folds from culture broth by IRA 420 and IRC 120 treatment, 1% NaCl added acetone precipitation, and Sepharose 4B column chromatography with overall yield of 48%. It was heteropolysaccharide consisted of mannose, arabinose, and glucose with a molar ratio, 31:17:2, and its molecular weight was estimated to be about 900,000 daltons by Sepharodse 4B gel filtration method. The optimum pH and temperature was 8 and 40°C, respectively. The factor was stable in pH range of 3~9 and at 100°C for 90 min. The cell aggregation activity of the factor was inhibited by the addition of  $Hg^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ , and some polypeptides such as milk casein or hemoglobin. The factor aggregated *Bacillus subtilis*, *B. macerans*, *B. turingiensis*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. malophilia*, and weakly aggregated *Staphylococcus* sp., *Sarcina lutea*, *P. putida* and *Cryptococcus neoformans*, but it didn't aggregate various strains of *Candida* sp. and *Saccharomyces* sp.

세포응집물질에 관한 연구는 식물에서 추출된 lectin이라는 물질이 사람과 동물의 적혈구에 특이적으로 작용하여 응집반응을 일으킴을 발견하고부터 시작되었다. Lectin은 당과의 특이적인 결합에 의하여 적혈구를 비롯한 각종세포를 응집시키는 성질을 가지고 있으며 lymphocytes의 분열을 유도하고 다당류나 단백질 침전시키는 성질을 가지고 있다(1-4). 그리고 일부 암세포를 응집시키는 능력을 가지고 있어서 임상적인 치료에 이용되기도 한다(5).

이와 같은 lectin의 특성으로 인해 유사한 기능을 가지고 있는 물질을 찾고자 하는 연구가 미생물을 대상으로 진행되어 현재까지 *Streptomyces* sp.(6-11), *Aspergillus* sp.(12-14), *Paecilomyces* sp.(15, 16), *Rhodococcus* sp.(17, 18), *Zoogloea* sp.(19-21), *Alcaligenes* sp.(22, 23), *Pseudomonas* sp.(24) 등에 속하는 미생물 균주가 분리되었으며 이들이 생산하는 물질도 glycoprotein, polysaccharide, triglyceride 및 bis(2-ethylhexyl)phthalate 등으로 다양하다.

Nakamura 등(12-14)은 미생물이 생산하는 *Saccharomyces* sp. 균주들을 응집시키는 물질을 보고하였으며, Takagi 등(15, 16)은 *E. coli*를 효과적으로 응집시키는 물질을 보고하였고 1990년도를 전후해서 Suzuki 등이 *Bacillus subtilis*를 비롯하여 *Serratia*, *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Micrococcus* 등을 응집시킬 수 있는 물질인 SAF(8, 10)와 *Proteus*와 *Candida* 속의 균주를 응집하는 3315-AF(6)와 3315-AF2(11)를 보고하였으며 SAF와 3315-AF는 미생물 세포외에 Hela, Sarcoma 180 등의 암세포를 응집시키는 성질을 가진다고 보고하여 임상적 이용과 암세포 표면의 특성 규명에의 이용 가능성을 제시하였다(25). 그리고 현재 국내에서는 폐수처리에 이용할 목적으로 *Zoogloea* sp.를 대상으로 세포응집물질이 연구되고 있다(19, 21).

본 연구자 등은 각종 세균에 대해서 응집활성을 가지는 물질을 *Aspergillus* 속 균주의 배양액으로부터 분리하였기에 보고하고자 한다.

#### 재료 및 방법

#### 균주 분리 및 선별

**Key words:** *Aspergillus* sp. LAM 94-142, cell aggregation factor, heteropolysaccharide

\*Corresponding author

Glucose 1%, yeast extract 0.5%, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.05% 조성의 배지(pH 6.0)를 사용하여 서울, 경기 및 강원도 일대에서 채취한 토양 시료에서 분리한 곰팡이 800여 균주를 대상으로 하여 30°C에서 5일간 정치배양한 후 시험균주인 *Bacillus subtilis* KCTC 1929에 대하여 응집 활성을 나타내는 12균주를 1차로 선별한 다음 30°C에서 5일간 진탕배양해서 응집활성이 가장 우수한 *Aspergillus*속 균주 LAM 94-142를 최종 선별하여 본 연구에 사용하였다.

**균의 배양**

Glucose 1.5%, yeast extract 0.35%, CaCl<sub>2</sub> 0.07%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.05% 조성의 배지(pH 7.0) 3l를 5l fermenter(Mituwa KMJ-5S)에 넣고 포자 현탁액을 0.5% 수준으로 접종하여 통기량 1vvm, 교반속도 200 rpm으로 30°C에서 4일간 배양하였다.

**세포응집물질의 활성 측정**

세포응집물질의 활성측정은 Suzuki 등의 방법(8)을 약간 변화하여 사용하였다. 즉, LB배지를 사용하여 30°C에서 24 hr 동안 진탕배양한 후 10분간 원심분리(10,00×g)하여 세척한 *Bacillus subtilis* KCTC 1929를 0.05M phosphate buffer(pH 8.0)에 현탁하여 620 nm에서의 흡광도가 1.0이 되게 조절한 다음 이 시험균주의 현탁액 4.5 ml에 시료용액 0.5 ml를 가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 응집활성의 단위는 10 min 동안에 흡광도를 0.2 감소시키는 것을 1 unit로 정하였다.

**물질의 정제**

배양여액을 pH 7로 조절하여 IRA 420 column(2.5×30 cm)에 400 ml/hr 속도로 통과시킨 용출액의 pH를 다시 7로 조절하여 IRC 120 column(2×30 cm)에 가하여 400 ml/hr 속도로 용출시켰다.

IRC 120 column 용출액에 NaCl을 1% 농도가 되게 가한 후 acetone을 동량 가하여 -20°C에서 5 hr 방치한 다음 원심분리(1,000×g)하여 침전물을 회수하여 24 hr 동안 증류수에서 투석하였다.

투석한 용액을 Sepharose 4B column(1.1×70 cm)에 가하여 증류수로 시간당 12 ml의 유속으로 용출시키면서 2 ml씩 분획하여 정제하였다.

**분자량 측정**

세포응집물질의 분자량을 측정하기 위하여 Sepharose 4B column(1.1×70 cm) chromatography를 행하였으며 12 ml/hr의 유속으로 용출하면서 tube당 2

ml씩 분취하였다. 표준물질은 분자량 200만, 50만, 7만 및 4만의 standard dextran(Sigma Co.)의 0.3% 용액을 사용하였다.

**세포응집물질의 구성당 분석**

세포응집물질 20 mg을 2N trifluoroacetic acid 2 ml에 녹인 다음 100°C에서 10 hr 산가수분해하고 감압농축과 중화를 반복하면서 농축하여 microfilter(0.45 μm)로 여과한 후 HPLC(Shimazu LC-6A)로 구성당을 분석하였다.

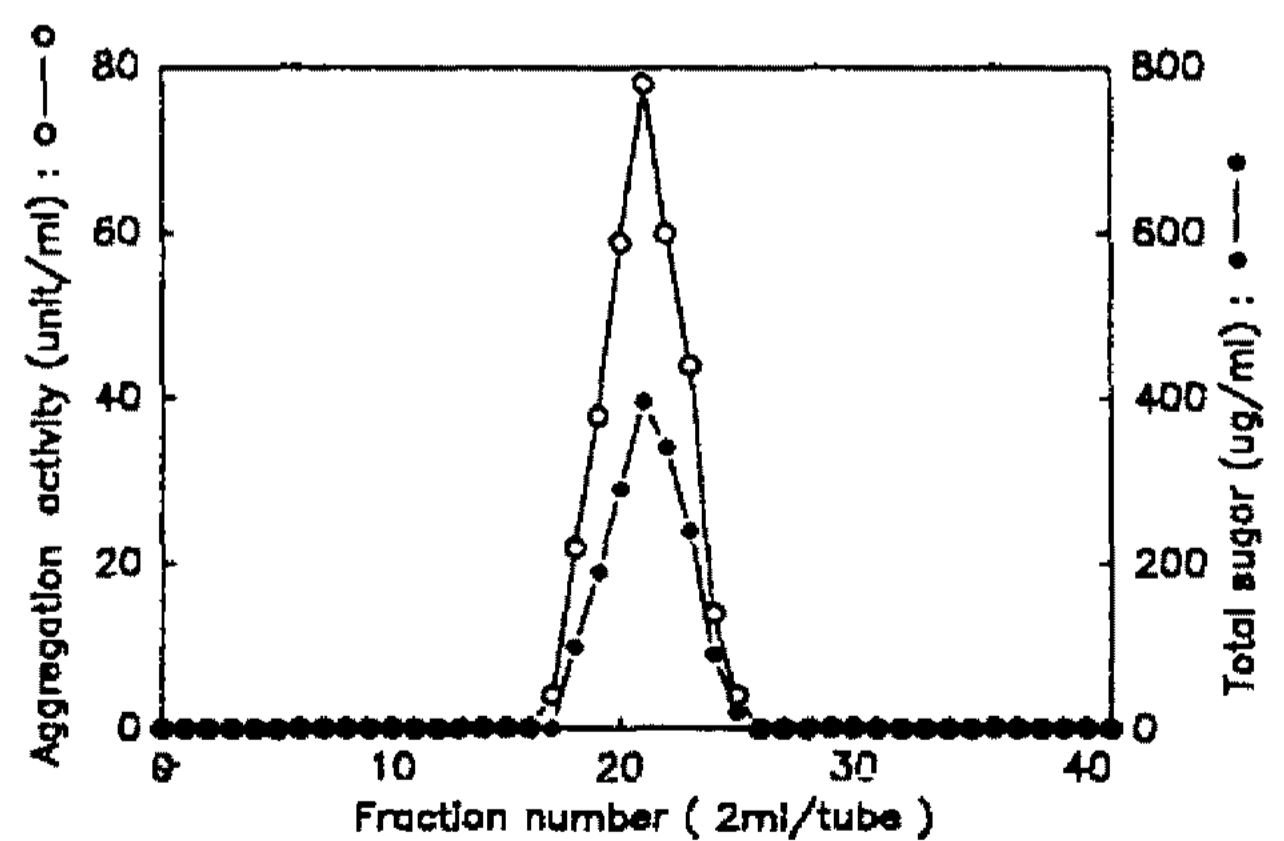
**결과 및 고찰**

**물질의 정제 및 분자량 측정**

Amberlite IRA 420 및 IRC 120 용출 균체를 제거한 배양액의 pH를 7로 조절하고 IRA 420 column(2.5×50 cm)에 가하여 400 ml/hr 속도로 통과시킨 후 다시 pH 7로 조정하여 IRC 120 column(2×30 cm)에 가하여 400 ml/hr 속도로 통과시켰다.

Acetone 침전 및 투석 IRC 120 column을 통과시킨 용출액에 NaCl을 1% 농도가 되게 가한 후 acetone을 동량 가하여 -20°C에서 5 hr 동안 침전시킨 다음 원심분리(1,000×g)해서 침전물을 회수하여 감압농축 후 증류수로 24 hr 동안 투석하였다.

Sepharose 4B column chromatography 투석한 용액을 회석한 후 Sepharose 4B column(1.1×70 cm)에 가하여 증류수를 사용하여 12 ml/hr 속도로 용출시켰으며 2 ml씩 분취한 결과 Fig.1과 같이 응집활성이 sugar peak와 일치하는 결과를 얻었다. 이렇게 하여 정제한 결과 Table 1에서과 같이 회수율은 48%



**Fig. 1. Elution profile for chromatography of the cell aggregation factor on Sepharose 4B**  
The column (1.1×70 cm) was charged with acetone precipitates, and eluted with distilled water at a flow rate of 12 ml/hr. Fractions of 2 ml were collected.

Table 1. Purification steps of the aggregation factor

Step	Total sugar (mg)*	Total activity (unit)	Specific activity (unit/mg)	Yield (%)
Culture filtrate	1,580	20,000	12.7	100
IRA 420	130	18,250	148.1	91
IRC 120	114	17,340	152.1	87
Acetone precipitation	64	11,500	179.7	57
Sepharose 4B	51	9,600	188.2	48

\*: Determined by phenol-sulfuric acid method

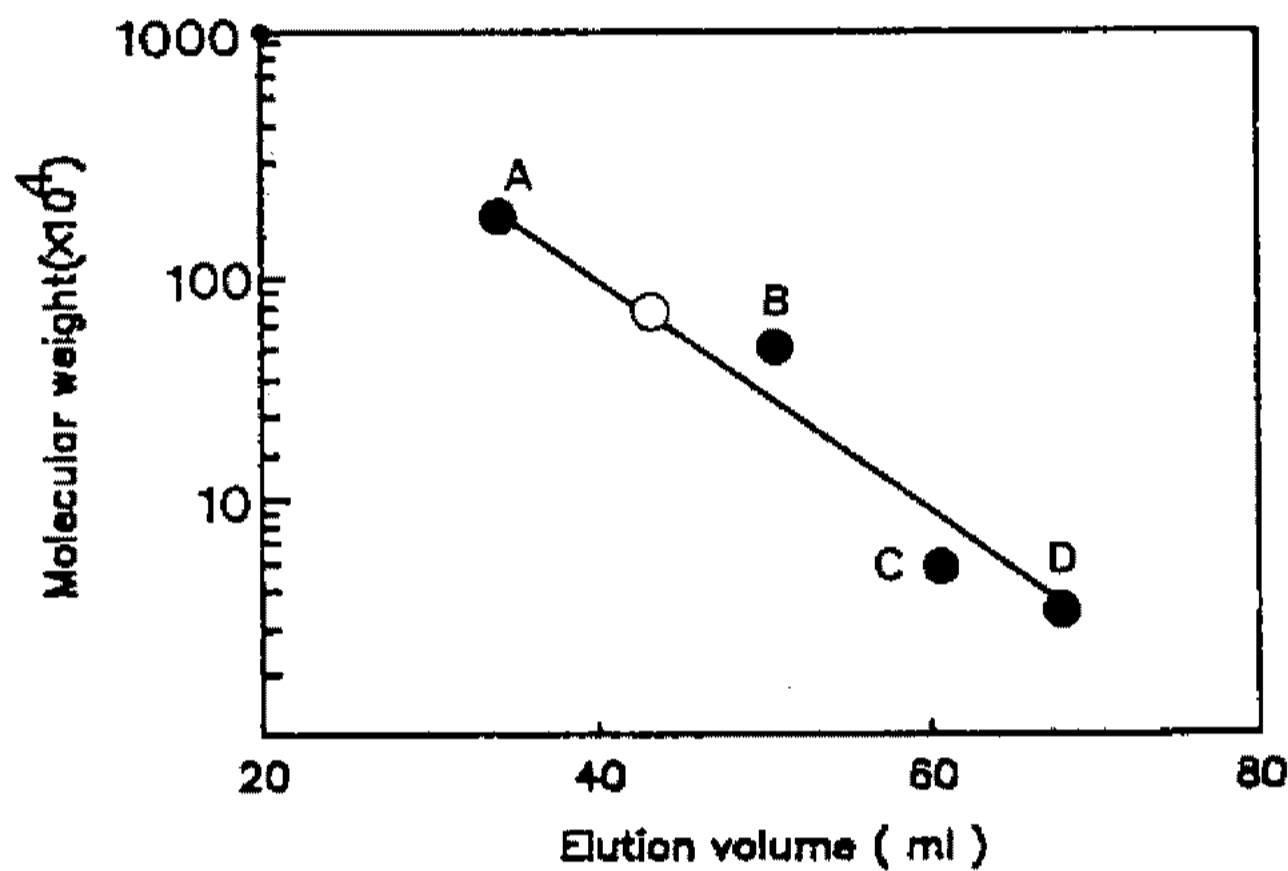


Fig. 2. Determination of molecular weight of the aggregation factor by Sepharose 4B column chromatography.

○: Aggregation factor, ●: Standard dextran  
A: M.W. 2,000,000, B: M.W. 500,000, C: M.W. 70,000, D: M.W. 40,000

Conditions of chromatography were the same as described in Fig. 1.

였으며, 약 15배 정제할 수 있었다.

**분자량** *Aspergillus* sp. LAM 94-142가 생산하는 세포응집물질의 분자량을 측정하기 위하여 Sepharose 4B column chromatography 한 결과 분자량은 약 90만이었다(Fig. 2). Suzuki 등(7)은 *Streptomyces* A-6143에서 얻은 응집물질의 분자량은 7만 3천이라고 보고하였으며, Takagi 등(16)은 *Paecilomyces* sp.가 생산하는 응집물질의 경우 30만, Toeda와 Kurane(22)는 *Alcaligenes cupidus*의 응집물질은 200만이라고 보고하였다.

#### 세포응집물질의 성질

**최적 pH 및 pH 안정성** 0.2M citrate 완충액(pH 3~6), 0.1M phosphate 완충액(pH 6~8) 및 12.5 mM borate 완충액(pH 8~11)을 사용하여 응집물질의 최적 활성 pH를 조사한 결과는 Fig. 3과 같이 8이었으며

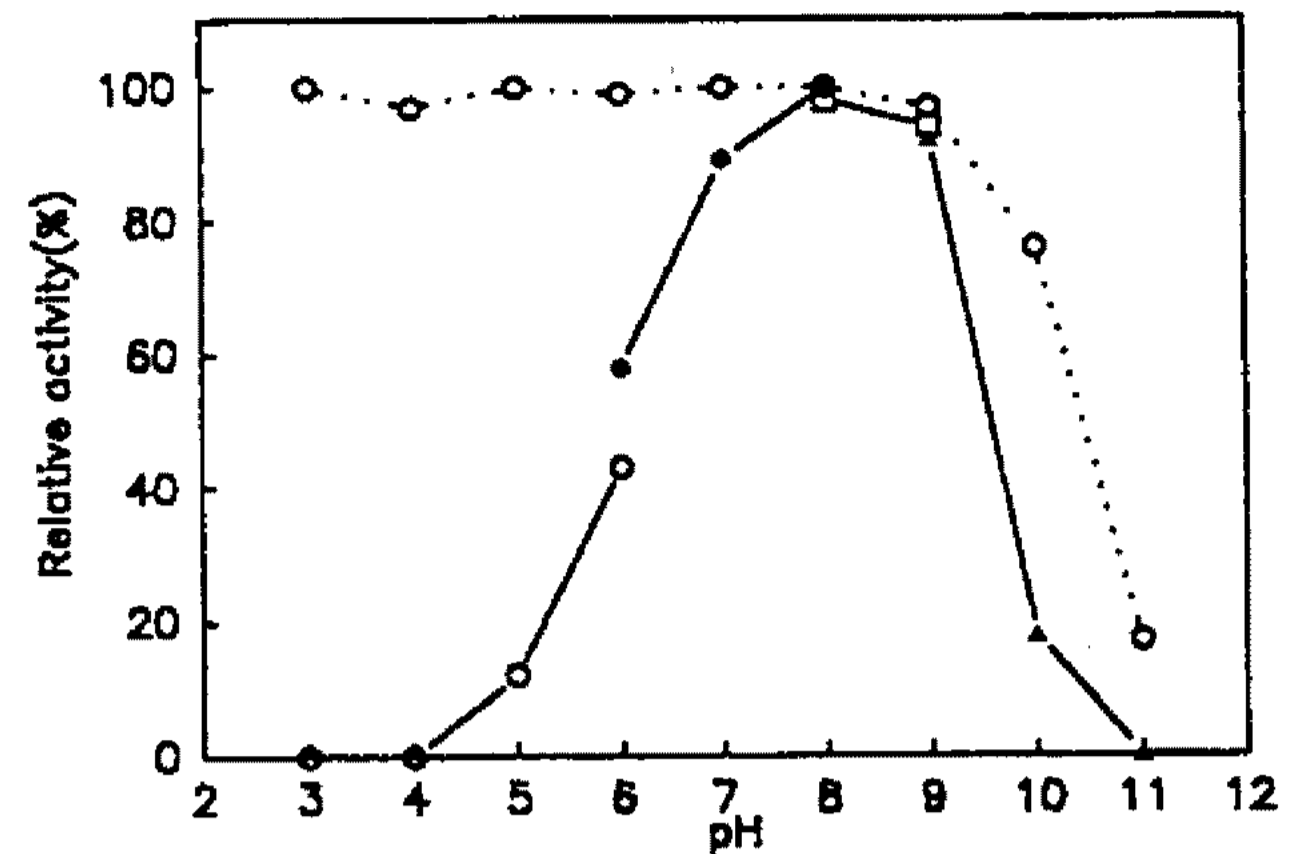


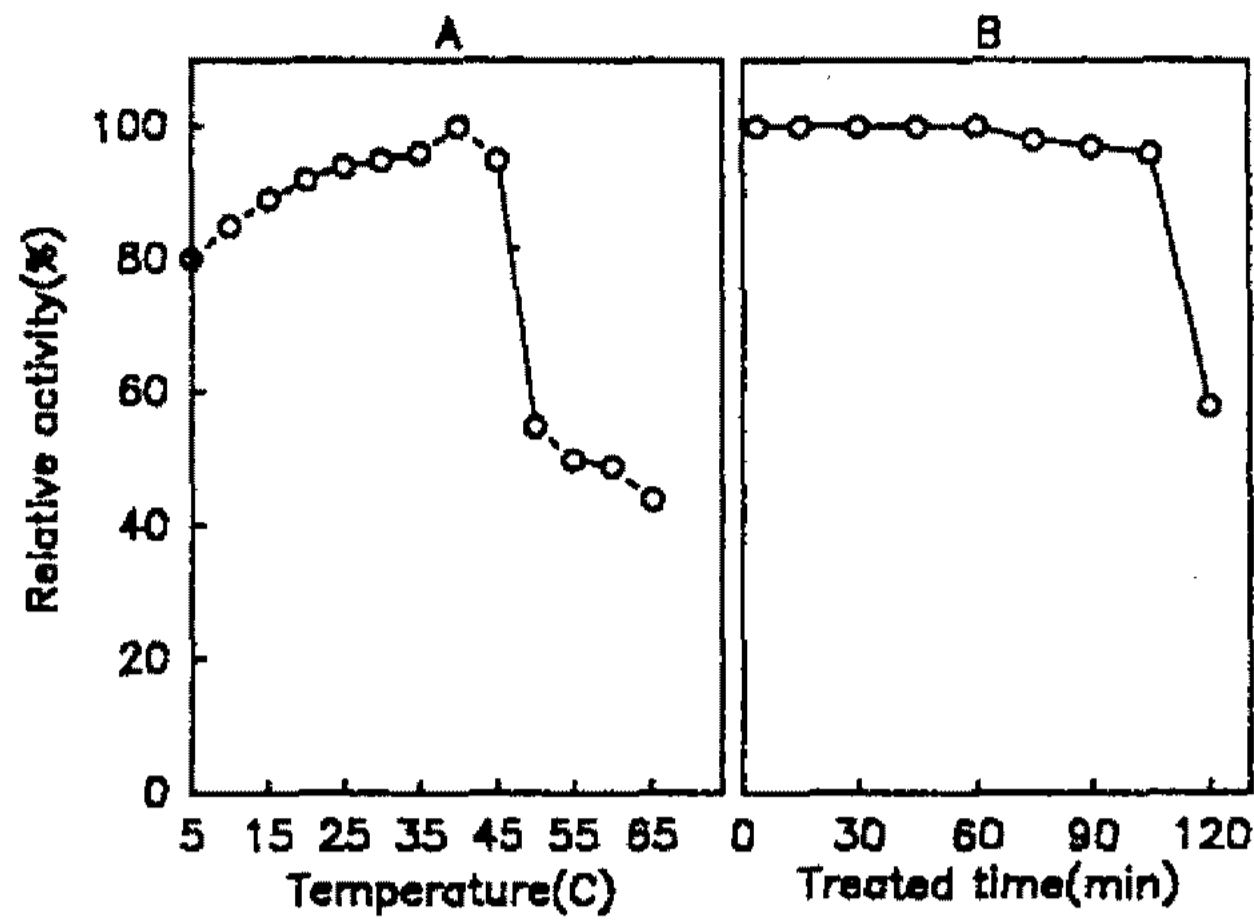
Fig. 3. The optimum pH on the aggregation activity.

○-○: 0.2M citrate, NaOH buffer  
●-●: 0.1M phosphate buffer  
□-□: 12.5 mM Na<sup>+</sup> borate, HCl buffer  
▲-▲: 12.5 mM Na<sup>+</sup> borate, NaOH buffer  
○---○: stability

For the stability test, the factor was incubated at each pH value for 30 min, at RT, and remaining activity was measured.

pH 7과 9에서도 90% 이상의 활성을 나타내었다. 이와 같은 결과는 Suzuki 등(8)이 보고한 *Streptomyces murinus* A-2805가 생산하는 응집물질의 최적 pH 7과는 유사하였으나, Takagi와 Kadowaki(15)의 *Paecilomyces* sp.의 응집물질의 pH 4~8, Nakamura 등(13)의 *Aspergillus sojae*에서 얻은 응집물질의 pH 3.5 등과는 상이하였다. 한편, Britton과 Robinson의 광역 완충액을 사용하여 각각의 pH에서 상온에서 30분 처리한 후 pH 8에서 잔존활성을 측정된 결과는 pH 3에서 9까지 넓은 범위에서 안정하였으며, pH 10에서는 약 25%, pH 11에서는 약 85% 정도 실패하였다(Fig. 3). 이와 같은 결과는 Suzuki 등이 보고한 *S. murinus* A-2805 (8)와 *Streptomyces* sp. A-6143(7)의 응집물질의 pH 안정범위가 각각 6~8과 7~9인 것에 비하여 대단히 넓은 pH 범위에서 안정하다는 것을 알 수 있었다.

**최적온도 및 열안정성** 응집물질의 작용 최적온도를 조사하기 위하여 5°C에서 65°C까지 5°C 간격으로 변화시키면서 활성을 측정된 결과는 Fig. 4A와 같이 40°C 부근에서 가장 응집활성이 높았으며 저온에서도 80% 이상의 높은 활성을 나타내어 폐수처리나 저온 발효등의 실제 응용에 장점이 많으리라 생각된다. 그러나 Suzuki 등은 *Streptomyces* sp.가 생산하는 SAF (8)는 30°C에서, 3315-AF(6)와 3315-AF2(11)는 28°C에서 최적 활성을 갖는다고 보고하였다. 한편, 응집물질 용액을 100°C에서 120분간 처리하면서 경시적으로 잔존활성을 측정된 결과는 Fig. 4B와 같이 90분 이상 안정하였다. 이는 Nakamura 등(6)이 보고한 *Asp.*



**Fig. 4. The optimum temperature (A) and heat stability (B) of the cell aggregation factor.**  
The factor was treated at 100°C for each time, and residual activity was assayed.

**Table 2. Effect of carbon on the aggregation activity**

Carbon sources	Relative activity (%)
None	100
Arabinose	98
Xylose	100
Glucose	100
Fructose	100
Galactose	94
Mannose	96
Rhamnose	100
Sucrose	100
Maltose	100
Lactose	100
Trehalose	98
Inositol	100
Mannitol	100
Dextrin	100
Soluble starch	92

*sojae*가 생산하는 응집물질은 100°C에서 20분 처리시 약 10% 실패하였고 Suzuki 등이 *Streptomyces*에서 얻은 응집물질 MAF(7)와 SAF(8)는 약 40°C까지는 안정하였다는 것에 비해 열안정성이 대단히 크다는 것을 알 수 있었다.

**활성에 미치는 각종 당류의 영향** 응집물질의 활성에 미치는 각종 당류의 영향을 조사하기 위하여 100 µg의 응집물질을 함유한 반응액에 0.2 mg/ml 농도로 각종 당류를 첨가하여 활성을 측정된 결과는 Table 2에서와 같이 사용한 여러가지 당류는 응집활성에 영향을 거의 미치지 않았다. 이와같은 결과는 Oishi와

**Table 3. Effect of metal ions on the aggregation activity**

Metal ions	Relative activity (%)
None	100
K <sup>+</sup>	94
Na <sup>+</sup>	104
Li <sup>+</sup>	104
Mg <sup>2+</sup>	101
Ca <sup>2+</sup>	105
Ba <sup>2+</sup>	105
Cu <sup>2+</sup>	42
Hg <sup>2+</sup>	33
Mn <sup>2+</sup>	102
Zn <sup>2+</sup>	100
Fe <sup>2+</sup>	28
Co <sup>2+</sup>	77
Pb <sup>2+</sup>	98

**Table 4. Effect of polypeptides on the aggregation activity**

Polypeptides	Relative activity (%)
None	100
Gelatin	92
Peptone	66
Concanavalin A	65
Milk Casein	0
Bovine serum albumin	90
Hemoglobin	0

Aida(26)가 보고한 *Actinimycetes* No.77이 생산하는 응집물질과 Suzuki 등이 연구한 HAF(7)와 SAF(8) 및 Ikekawa 등(9)이 보고한 *Streptomyces* sp. No.327이 생산하는 응집물질 canacelunin 등과 유사하였다.

**활성에 미치는 금속 이온의 영향** 응집활성에 미치는 금속 이온의 영향을 알아보기 위해 100 µg의 응집물질이 들어있는 반응액에 각각의 금속 이온을 1 mM 되게 첨가하여 활성을 측정된 결과는 Table 3과 같으며 활성을 크게 증가시킨 금속 이온은 없으나 Hg<sup>+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> 등은 응집활성을 심하게 저해하였다. Takagi 등(15)도 활성을 향상시킨 금속 이온은 없었고 다만 Fe<sup>2+</sup>의 첨가시 급격한 활성의 감소를 가져왔다고 하였으며 Oishi와 Aida(26)는 Ag<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> 그리고 Hg<sup>2+</sup>의 첨가시 활성이 감소했다고 보고하였으나 Suzuki 등(6)은 Ca<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup> 그리고 Ba<sup>2+</sup>의 첨가시 활성이 약 6배나 증가하였다고 보고하였다.

**활성에 미치는 polypeptides의 영향** 반응액에 여

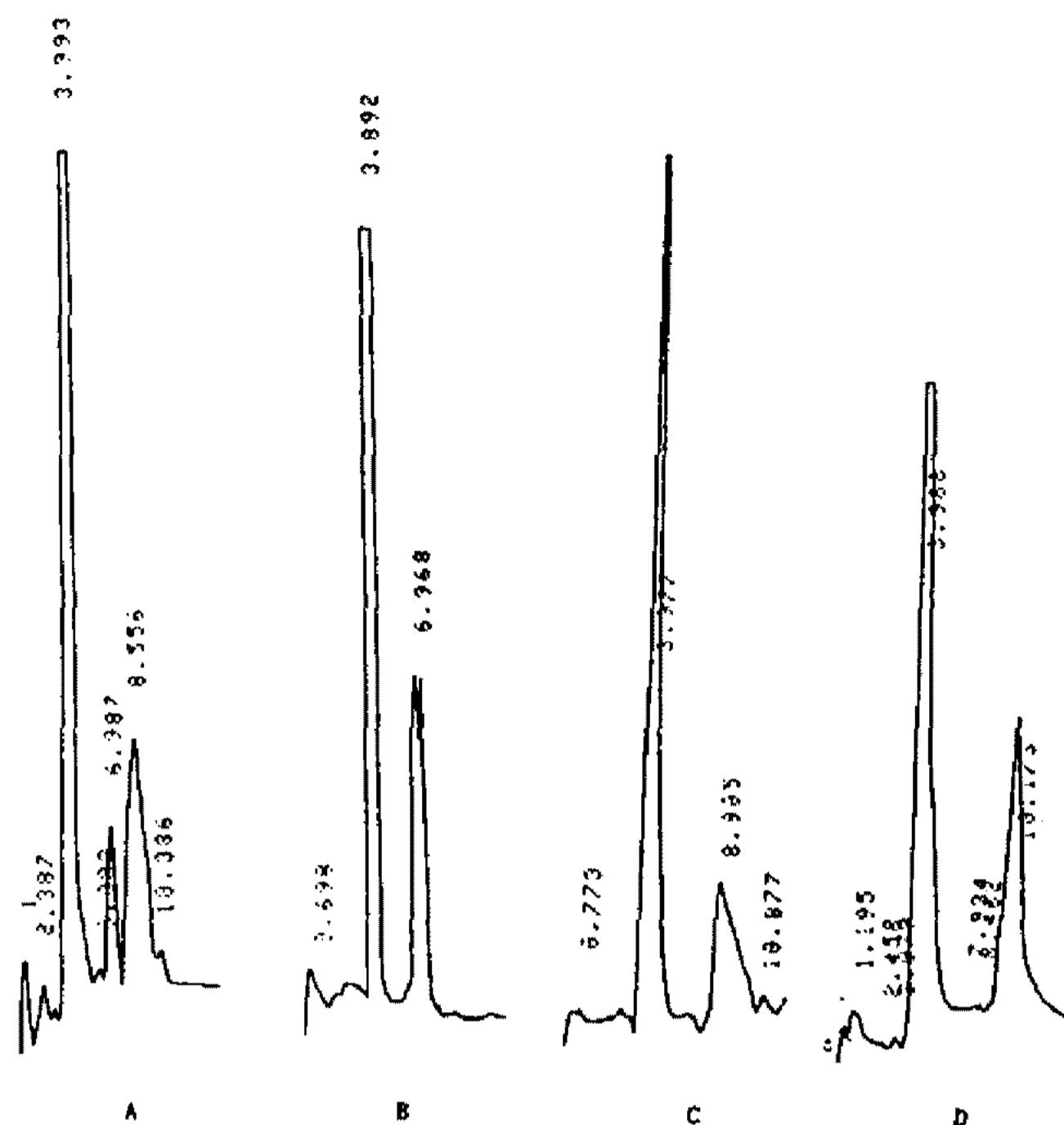
**Table 5. Effect of the aggregation factor on the various microorganisms**

Microorganisms	Relative activity (%)
<i>Bacillus subtilis</i> KCTC 1929	100
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	96
<i>Bacillus macerans</i> IFO 3490	116
<i>Bacillus turingiensis</i>	95
<i>Escherichia coli</i> ATCC 1634	80
<i>Escherichia coli</i> KCTC 1923	103
<i>Pseudomonas malophilia</i>	91
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 13130	84
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	85
<i>Pseudomonas putida</i>	50
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	45
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	48
<i>Sarcina lutea</i>	52
<i>Cryptococcus neoformans</i> KCTC 1197	61
<i>Candida albicans</i> KCTC 1940	0
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	0
<i>Candida guilliermondii</i> KCTC 7144	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KECC 32016	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KCTC 7142	0

**Table 6. Biochemical reactions of the aggregation factor and its hydrolyzate**

Reactions	Aggregation factor	Hydrolyzate
Molish	+	+
Anthrone	+	+
DNS	-	+
Iodine	-	-
Benedict	-	+
Ninhydrin	-	-
Biuret	-	-
Millon	-	-
Hopkins-Cole	-	-

러가지 polypeptide를 0.2 mg/ml 농도로 첨가하여 응집물질의 활성에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 4와 같이 사용한 대부분의 polypeptides는 활성을 저해하였으며 특히 milk casein과 hemoglobin은 강하게 저해하였다. 한편 Nakamura 등(14)은 *A. sojae*의 응집물질이 cocanavalin A에 의해서, Suzuki 등(10)의 SAF는 albumun을 비롯한 각종 polypeptides에 의해서 저해된다고 보고하였으며 Suzuki 등(7)의 HAF는

**Fig. 5. HPLC elution pattern of the hydrolyzate.**

A: Hydrolyzate, B: Arrabinose, C: Mannose, D: Glucose

Column, Alltech carbohydrate OH-100 7U, 250×4.6 mm; Solvent, acetonitrile-water (85:15) mixture; Detector, differential refractometer (RI); Flow rate, 1 ml/min; Injection volumn, 5 µl each.

각종 albumin에 의해서 전혀 영향을 받지 않는다고 보고하였다.

#### 각종 미생물 균주에 대한 작용

*Aspergillus* sp. LAM 94-142가 생산하는 세포 응집물질의 각종 미생물에 대한 응집활성 spectrum을 조사한 결과는 Table 5와 같이 *Bacillus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Sarcina* 등의 세균과 *Cryptococcus neoformans*에 대해서는 응집활성을 보였으나 *Candida*나 *Saccharomyces* 같은 효모에 대해서는 활성이 없었다. 한편 Takagi와 Kadowaki(15)가 보고한 *Paecilomyces* sp.가 생산하는 응집물질과 Nakamura 등(10, 12, 13)의 *Aspergillus sojae* AJ 7002가 생산하는 물질은 세균과 효모등에 광범위하게 응집활성을 보였고, Suzuki 등(8)이 보고한 *S. murinus* A-2805가 생산하는 응집물질 SAF는 *Saccharomyces*에 대해서는 활성을 나타내었으나 *Pseudomonas*와 *Candida* 등에 대해서는 응집활성을 나타내지 않았다.

#### 응집물질의 생화학 반응 및 조성

세포응집물질과 2N trifluoroacetic acid로 100°C에서 10시간 처리한 가수분해물에 대한 각종 생화학

반응을 조사한 결과 Molish, anthrone, Benedict 및 DNS 반응에만 양성을 나타내었기 때문에 순수하게 당으로만 구성된 다당류라고 생각되며, HPLC로 구성당을 분석한 결과 mannose, arabinose 및 glucose로 이루어진 물질이었으며 조성비가 31 : 17 : 2인 heteropolysaccharide였다(Fig. 5).

Nakamura 등(7)의 *Asp. sojae* AT 7002에서 얻은 응집물질은 당단백질이었으며 Takagi와 Kadowaki (16)의 *Paecilomyces*에서 얻은 물질은 galactosamine으로 구성된 다당류였고 Toeda와 Kurane(22)의 *A. cupidus* KT201이 생산하는 응집물질은 glucose, galactose 및 gluconic acid로 구성된 다당류의 acetyles-ter였다고 보고되어 있다.

## 요 약

*Aspergillus* sp. LAM 94-142가 생산하는 세포응집 물질의 특성은 다음과 같았다. 배양여액을 IRA 420 과 IRC 120으로 처리 후 1% NaCl을 함유한 acetone 침전 및 Sepharose 4B column chromatography로 회수율 48%로 약 15배 정제하였다. 정제된 물질은 mannose, arabinose 및 glucose가 31 : 17 : 2의 조성비로 이루어진 분자량 약 90만 dalton의 heteropolysaccharide였으며 최적 작용 pH와 온도는 각각 pH 7~9와 40°C 부근이었고 pH 3 이하와 9 이상에서는 불안정하였으나 열처리에 대해서는 대단히 안정하였다. 응집반응시 각종 당류는 별로 영향을 미치지 못하였으나 milk casein이나 hemoglobin 같은 polypeptide와  $Hg^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  등의 금속 이온은 응집활성을 저해하였다. 그리고 *Bacillus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Sarcina* 등의 세균과 *Cryptococcus neoformans*에 대해서는 응집활성을 나타내었으나 *Candida*나 *Saccharomyces* 등의 효모에는 활성이 없었다.

## 감사의 글

이 연구는 1994년도 건국대학교에서 지원한 일반 연구비로 수행된 과제입니다.

## 참고문헌

1. Sharon, N. and H. Lis. 1972. Lectins: cell-agglutination and supra-specific proteins. *Science*. **177**: 949-959.
2. Lis, H. and N. Sharon. 1973. The biochemistry

- of plant lectins. *Ann. Rev. Biochem.* **42**: 541-574.
3. Matsui, I., T. Kameyama, K. Oishi and K. Aida. 1982. Purification of a new L-fucose-specific lectin produced by *Streptomyces* No. 100-2. *Agric. Biol. Chem.* **46**: 833-835.
4. Matsui, I., K. Oishi, K. Kanaya and N. Baba. 1985. The morphology of L-fucose specific lectin (SFL 100-2) produced by *Streptomyces* No. 100-2. *J. Biochem.* **97**: 399-408.
5. 정시련, 정경희. 1985. 렉틴. *생화학뉴스* **5**: 27-38.
6. Suzuki, K., N. Nakano, R. Tanaka, M. Uyeda and M. Shibata. 1988. Cell aggregation factor produced by *Streptomyces* sp. strain No. A-3315. *Agric. Biol. Chem.* **52**: 2589-2595.
7. Suzuki, K., N. Nakano, Y. Nagatomi, H. Tomimaga, N. Nakazono, M. Itai, M. Uyeda and M. Shibata. 1990. HAF, hepatoma aggregation factor produced by *Streptomyces* sp. strain No. A-6143. *Agric. Biol. Chem.* **54**: 2061-2068.
8. Suzuki, K., M. Ksai, K. Yolomizo, M. Uyeda and M. Shibata. 1987. SAF, a new cell aggregation factor produced by *Streptomyces murinus* strain No. A-2805. *Agric. Biol. Chem.* **51**: 3017-3025.
9. Ikekawa, T., T. Asari, T. Manabe, M. Umeji and S. Yanoma. 1980. Canacelin, a cancer cell agglutinin from *Streptomyces* sp. *J. Antibiotics*. **33**: 776-777.
10. Suzuki, K., N. Nakano, R. Tanaka, M. Uyeda and M. Shibata. 1988. Characteristics and action mechanism of SAF, cellaggregation factor produced by *Streptomyces murinus* strain No. A-2805. *Agric. Biol. Chem.* **52**: 555-559.
11. Uyeda, M., K. Suzuki and M. Shibata. 1990. 3315-Af2, a cell aggregation factor produced by *Streptomyces* sp. strain No. A-3315. *Agric. Biol. Chem.* **54**: 251-252.
12. Nakamura, J., S. Miyashiro and Y. Hirose. 1976. Screening, isolation and some properties of microbial cell flocculants. *Agric. Biol. Chem.* **40**: 377-383.
13. Nakamura, J., S. Miyashiro and Y. Hirose. 1976. Purification and chemical analysis of microbial cell flocculant produced by *Aspergillus sojae* AJ 7002. *Agric. Biol. Chem.* **40**: 619-624.
14. Nakamura, J., S. Miyashiro and Y. Hirose. 1976. Modes of flocculation of yeast cells with flocculant produced by *Aspergillus sojae* AJ7002. *Agric. Biol. Chem.* **40**: 1565-1576.
15. Takagi, H., and K. Kadowaki. 1985. Flocculant production by *Paecilomyces* sp. taxonomic studies and culture conditions for production. *Agric. Biol. Chem.* **49**: 3152-3157.
16. Takagi, H., and K. Kadowaki. 1985. Purification and chemical properties of a flocculant produced by *Paecilomyces*. *Agric. Biol. Chem.* **49**: 3159-3164.

17. Kurane, R., K. Takeda and T. Suzuki. 1986. Screening for and characteristics of microbial flocculants. *Agric. Biol. Chem.* **50**: 2301-2307.
18. Kurane, R., K. Takeda and T. Suzuki. 1986. Culture conditions for production of microbial flocculant by *Rhodococcus erythropolis*. *Agric. Biol. Chem.* **50**: 2309-2313.
19. 정윤철. 1990. *Zoogloea ramigera*에 의한 biopolymer 생산과 환경분야 이용. *생물화공* **4**: 33-38.
20. 이신영. 1990. 미생물 polysaccharide의 생합성과 물성. *생물화공* **4**: 24-32.
21. 안대회, 권해수, 정윤철. 1992. *Zoogloea ramigera*에 의한 생물고분자 생산에 관한 연구. *한국생물공학회지* **7**: 166-171.
22. Toeda, K. and R. Kurane. 1991. Microbial flocculant from *Alcaligenes cupidus* KT201. *Agric. Biol. Chem.* **55**: 2793-2799.
23. Kurame, R. and Y. Nohata. 1991. Microbial flocculation of waste liquids and oil emulsion by bioflocculant from *Alcaligenes latus*. *Agric. Biol. Chem.* **55**: 1127-1129.
24. Takenaka, A., K. Oishi and K. Aida. 1979. Sugar specificity of the hemagglutinins produced by soil bacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **25**: 397-400.
25. Suzuki, K., H. Tominaga and M. Uyeda. 1992. Effect of proteases on hepatoma AH109A cells aggregated by a microbial hipatoma aggregation (HAF). *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**: 1880-1881.
26. Oishi, K. and K. Aida. 1975. screening, isolation and some properties of mouse tumor cell agglutinin. *Agric. Biol. Chem.* **39**: 183-191.

(Received 10 June 1995)