

植物的 自家不和合性, 最近의 進歩

韓昶烈* · 韓智學¹

*興農種苗 育種研究所, ¹Rutgers University, N.J., USA

Recent Advances in the Studies of Self-Incompatibility of Plants

Chang-Yawl HARN* and Chee HARN¹

*Breeding Research Station, Hungnong Seed Co. LTD.; and ¹Rutgers University, NJ 08903-0231, USA. *Corresponding author.

Many flowering plants possess genetically controlled self-incompatibility (SI) system that prevents inbreeding and promotes outcrosses. SI is usually controlled by a single, multiallelic S-locus. In gametophytically controlled system, SI results when the S-allele of the pollen is matched by one of the two S-alleles in the style, while in the sporophytic system self-incompatible reaction occurs by the interaction between the pistil genotype and genotype of, not the pollen, but the pollen parent. In the former system the self-incompatible phenotype of pollen is determined by the haploid genome of the pollen itself but in the latter the pollen phenotype is governed by the genotype of the pollen parent along with the occurrence of either co-dominant or dominant/recessive allelic interactions. In the sporophytic type the inhibition reaction occurs within minutes following pollen-stigma contact, the incompatible pollen grains usually failing to germinate, whereas in gametophytic system pollen tube inhibition takes place during growth in the transmitting tissue of the style. Recognition and rejection of self pollen are the result of interaction between the S-locus protein in the pistil and the pollen protein. In the gametophytic SI the S-associated glycoprotein which is similar to the fungal ribonuclease in structure and function are localized at the intercellular matrix in the transmitting tissue of the style, with the highest concentration in the collar of the stigma, while in the sporophytic SI deposit of abundant S-locus specific glycoprotein (SLSG) is detected in the cell wall of stigmatic papillae of the open flowers. In the gametophytic system S-gene is expressed mostly at the stigmatic collar, the upper third of the style length, and in the pollen after meiosis. On the other hand, in the sporophytic SI S-glycoprotein gene is expressed in the papillar cells of the stigma as well as in the sporophytic tapetal cells of anther wall. Recognition and rejection of self pollen in the gametophytic type is the reaction between the ribonuclease in the transmitting tissue of the style and the protein in the cytoplasm of pollen tube, whereas in the sporophytic system the inhibition of selfed pollen is caused by the interaction between the S-glycoprotein in the wall of stigmatic papillar cell and the tapetum-origin protein deposited on the outer wall of the pollen grain. The claim that the S-allele-associated proteins are involved in recognition and rejection of self pollen has been made merely based on indirect evidence. Recently it has been verified that inhibition of synthesis of S₃ protein in *Petunia inflata* plants of S₂S₃ genotype by the antisense S₃ gene resulted in failure of the transgenic plant to reject S₃ pollen, and that expression of the transgene encoding S₃ protein in the S₁S₂ genotype confers on the transgenic plant the ability to reject S₃ pollen. These findings provide direct evidence that S-proteins control the self-incompatibility behavior of the pistil.

Key words: *Brassica oleracea*, gametophytic SI, glycoprotein, *Nicotiana glauca*

今世紀初 Mendel 遺傳原理의 再發見, Johannsen의 純系理論, de Vries의 突然變異說 등이 거의 동시에 발표되면서 遺傳學과 品種改良 事業이 飛躍的 發展을 했다.

優良種子가 만들어지면서 種苗生産이 企業化되었는데, 品

種이 商品으로서 가치가 있으려면 優秀性 못지않게 중요한 것이 均一性이다. 벼, 밀, 보리, 콩 등 自殖性 作物은 homozygous하게 만들기도 쉽고 homozygous 상태를 유지하기도 쉬워 品種 均一性의 획득과 유지가 문제되지 않지만

菜蔬·花卉 등他家受精을 주로하는農作物에서는 homozygous化가 잘 되지도 않고 homo化가 되어도 안되고 homo 상태를 유지하기도 힘들어品種均一性的 획득과 유지가 대단히 힘들다.他家性作物에서는 homozygous化를 너무 강요하지 않고 적당한線에서 compromising 하는 식으로 해서 소위 "固定種"이라는準均一性的品種을 만들어냈다.

homozygosity에 기초한品種改良이 오래 계속되다가 今世紀 중반부터는 雜種強勢의 理論을 育種에 導入했다. 異系統·異品種間에 交雜, 遺傳子組成이 극도로 heterozygous한 F1을 만들고 이強勢의 F1을 직접品種化하는 식으로 育種의 方向이 一大 旋回를 했다. 즉 homozygosity에 기반을 둔 育種에서 heterozygous 상태를 만들어 이용하는 育種으로 바뀐 셈이다.

F1 雜種은 모든 면에서 우수하기 때문에 오늘날 菜蔬·花卉를 비롯 거의 대부분의農作物에서 F1 世代를品種化하고 있다. F1에서 採種한 F2 種子는 商品價値가 없기 때문에 兩親을 가지고 매년 F1 品種을 만들어 내야한다. 그러므로 F1 品種을 한번만 쓰고 버리는 1 回用 注射器에 比喩할 수도 있다.

F1 種子는 遺傳子 組成이 극도로 heterozygous하지만 F1 品種 自體로서는 均一해야 한다. 그러기 위해서는 兩親모두가 homozygous한 完備한 自殖系이어야함은 물론이고 兩親間의 受精에 의한 F1 種子만 만들어져야지 兩親 각각에서 自殖種子가 생겨 F1 種子와 섞이면 안된다. 즉 兩親品種 모두가 自殖能力이 없는 自家不和合性的 것이든가 아니면 片親이 雄性不稔性을 가지고 있어야 한다. 自家不和合性, 雄性不稔性 모두 高等植物이 일생을 살아가고 后代를 남기고 進化를 하는데 필요한 特性이다. 人間은 植物의 이런 天然特性的 遺傳樣式을 구명해 내서 F1 品種을 만드는데 이용하고 있다. 오늘날 F1의 品種化는 育種의 主流를 이루고 있는데 雄性不稔(MS) 現象의 利用은 Johnes의 提唱이고 自家不和合(SI) 現象을 이용한 F1 育成은 우리 나라 禹長春博士가 提案한 것이다.

變異는 生物進化의 바탕이다. 다양한 변이중에서 가장 적응된 것이 살아 남는다. 선택된 적응개체와 遺傳子組成이 똑같은 것을 급속히 증식, 傳播시키기 위해 高等植物에는 營養繁殖과 自家受精이라는 生殖·繁殖樣式을 擇한것이 있다. 前者는 heterozygous상태로, 後者는 homozygous상태로 유전적으로 똑같은 것이 증식, 各處에 傳播된다.

高等植物에는 進化過程에서 上記와 같이 絶對的인 自家受精樣式을 擇한 것도 있지만 대부분의 것은他家授粉·他家受精을 해서 變異의 幅을 넓혀 進化의 素材를 마련함과 동시에 각종 환경변화에 슬기롭게 對處해 나갈수 있게 되어 있다.

他家受精植物이라고 하지만 그 정도가 區區하다. 自殖·他殖을 거의 같은 정도로 하는 것에서부터他家受精을 주로하되 自家受精能도 여러 정도로 保有하고 있는것,

homomorphic한 兩全花인데도 絶對的으로 他殖만 하고 生理的으로 自家受精能을 아예 喪失한 것 등이 있다.

花器의 雌·雄蕊, 花粉·胚囊, 雌·雄配偶子 모두가 正常이고 完備한 受精能力을 가지고 있는데도 自家授粉에 의해서는 受精이 안 되고 自殖種자가 생기지 않고 他殖種자만을 만들어 내는 것이 있다. 이와 같이 암술이 자가화분(self pollen)을 拒否하는 現象을 自家不和合性이라고 하는데 被子植物에서 많이 볼 수 있는 흔한 현상이다.

農作物의 自家不和合性是 F1種子 生産에는 귀중한 特性인 관계로 植物育種分野에서는 雄性不稔 現象과 더불어 오랜 세월 많은 연구가 이루어졌다. 그 중에서도 특히 自家不和合性的 遺傳樣式에 관한 것은 깊이 연구되어 실지 육종기술에 活用되고 있다. 그러나 왜 自家不和合이 되는지, 암술이 어떻게 자기 화분과 다른 花粉을 식별하고 다른 화분은 받아들이고 자기의 것은 拒否하는지, 또 암술이 不和合花粉을 거부하는 양상이 配偶體型과 造胞體型間에 차이가 있는데 그 원인이 무엇인지 등 生理·生化學的 연구는 많은 노력에도 불구하고 최근까지도 별로 成果가 없었고 여러 가지로 推測만 해 왔다.

암술이 자기花粉을 拒否하는 것은 암술 단백질과 화분 단백질과의 相互作用이라고 보고 초창기에는 이것을 動物이나 人間の 臟器 移植때의 拒否反應에 比喩한 적도 있었다. 人間の 경우는 植物과는 반대로 자기의 組織은 받아들이고 他人의 것에 대해서는 異質蛋白質이어서 拒否反應을 나타낸다. 동물이나 인간의 histo-compatibility system에 대해서는 생리·생화학적으로 많이 연구되었는데 이 때의 拒否反應 機構를 식물에서는 反對로 생각하면 된다는 것이다.

花粉蛋白質과 雌蕊蛋白質과의 관계 그리고 이들과 自家和合, 不和合과의 관계를 오랫동안 확실히 모르고 있었는데 근래 DNA 操作 技術에 의해 花柱內 不和合花粉管의 伸長 抑制物質, 不和合遺傳子の 正體가 밝혀지면서 不和合에 대한 새로운 사실들이 속속 명백해지고 있다. 本文은 自家不和合 現象을 古典學問的인 面과 尖端知識에 基礎한 分野로 크게 2分, 이것을 여러 각도에서 생각해 본 것이다.

古典學的 自家不和合性

自家不和合 現象

雌蕊·雄蕊가 모두 정상이고 능력있는 完備한 雌·雄生殖細胞를 만드는 同型藥兩全花인데도 自家授粉에 의해서는 受精이 안되고 種자는 他殖에 의해서만 생긴다. 이런 現象을 自家不和合(self-incompatible), 그런 性質을 自家不和合性(self-incompatibility) 略해서 SI라고 한다. 自家授粉뿐 아니라 特定異系統間의 授粉에서도 受精이 안된다.

이런 現象을 가진 식물로는 각종 果樹類, 十字花科, 茄子

科, 콩과, 菊科, 牧草類 등 80余科, 3000余種에 이르고 顯花植物 全科중 半 以上에 널리 퍼져 있어 自家不和合性이라는 것은 高等植物이 가지고 있는 일반 특성인 것같이 되어 있다.

自家不和合性的 遺傳機構는 대단히 복잡해서 明快하게 설명이 안되는 경우가 많지만 기본적으로 이를 흔히 두 型으로 나누어 생각하는 경우가 많다. 한 型은 花粉 즉 配偶體의 genotype 여하에 따라 和合, 不和合이 결정되는 配偶體型 自家不和合性(gametophytic self-incompatibility)이고 또 하나는 花粉을 만들어 낸 花粉親 즉 造胞體의 genotype에 의해 和合, 不和合이 決定되는 造胞體型(옛날의 芽胞體性) 自家不和合性(sporophytic self-incompatibility) 이다.

두 自家不和合型的 特徵

配偶體性的 自家不和合에서는 花粉管이 柱頭組織內에 侵入, 花柱內로 伸長되지만 途中 伸長이 停止, 受精이 안되는 경우가 많고 造胞體型 自家不和合의 경우는 花粉이 自家柱頭上에서는 發芽가 안 되던가 實사 發芽가 된다해도 柱頭組織內로 侵入을 못하는 수가 많다.

이 두 遺傳型은 成熟花粉의 組成上으로도 구별이 된다. 元來 花粉은 成熟花粉이 되어 飛散될때 生殖細胞가 分裂, 두 개의 精細胞로 되는 花粉과 分裂이 안되고 生殖細胞狀態로 飛散되는 경우가 있다. 前者에 속하는 것으로는 禾本科, 十字花科 등이 있고 後者를 代表하는 것으로는 茄子科, 葫蘆科 植物 등이 있다. 두 개의 精細胞를 가진 花粉을 營養細胞까지 합해서 3細胞性 花粉, 아직 生殖細胞 상태로 되어 있는 花粉을 營養細胞와 합쳐 2細胞性 花粉이라고 한다. 이 두 型의 구분은 별것이 아니고 생식세포의 분열이 얼마나 진행되었는가에 달려있다. 후자인 2세포성 花粉도 飛散할 때 生殖核이 대부분 核分裂 前期 狀態에 있는 수가 많다. 그런데 흥미있는 것은 自家不和合性에서 花粉이 억제되는 장소와 이 花粉型과의 사이에는 밀접한 관계가 있다는 사실이다.

2細胞性 花粉은 보통 配偶體性 不和合 現象을 나타내고 花粉管은 花柱內에서 신장이 억제된다. 여기에 반해 3세포성 花粉의 식물은 造胞體性 自家不和合 反應을 나타내고 花粉은 柱頭에서 억제된다. 그러나 이 規範에 예외도 많은데, 禾本科의 일부는 3세포성 花粉인데도 배우체성 불화합 현상이 있고, 달맞이꽃 같은 것은 2세포성 花粉이고 배우체성 불화합인데도 花粉이 주두에서 억제된다. 造胞體性 自家不和合 植物에는 乾燥型 柱頭가 많고 配偶體性 不和合植物의 柱頭는 濕潤型이지만 乾燥型柱頭도 있다.

雌藥은 주두에 붙은 花粉을 인식해서 和合, 不和合 花粉을 판정한다. 일단 불화합花粉이라는 판결이 나면 造胞體型 *Brassica*에서처럼 이것을 주두에서 거절하는 수도 있고, 配偶體型인 *Nicotiana*와 같이 花柱內에서 花粉管 신장이 정지

되는 수도 있다. 이제 雌藥가 花粉을 어떻게 인식하고 迎入 또는 거부하는지를 생각해 보기로 하겠지만 그 보다 먼저 自家不和合性的 遺傳樣式에 대해서 說明을 해 두는 것이 좋을 것 같다.

여기에 附言해 둘 것은 앞에서 成熟花粉을 2細胞性, 3細胞性 花粉이라고 했는데 일반冊에는 2核性, 3核性 花粉이라는 用語를 사용하는 수가 많다. 옛날에는 花粉核 染色技術과 基礎知識이 不充分해서 生殖細胞, 精細胞 등을 세포로 보지 못하고 裸出된 核으로 誤認, 이들을 生殖核, 精核이라고 불렀고 여기에 營養核을 합쳐 2核性, 3核性 花粉이라고 부르게 되었다.

配偶體型 自家不和合性的 遺傳樣式

配偶體性 自家不和合 現象은 East와 Park (1917), East와 Mangelsdorf (1925) 등이 *Nicotiana sandrae*, 觀賞用 *Nicotiana* 植物인 *N. alata* 등의 연구에서 처음 밝힌 것인데 암술과 여기에 授粉되는 花粉間에 S系의 같은 遺傳子를 共有했을때에 不和合이 된다는 것이다. 가령 S系 不和合 因子로서 어떤 個體의 genotype을 S_1S_2 라 하고 自家授粉을 시켰다고 하면, 암술의 genotype은 S_1S_2 이고 여기에 授粉되는 花粉은 S_1 과 S_2 가 될 것이다. S_1 花粉은 암술의 S_1 때문에, S_2 花粉도 암술의 S_2 유전자 때문에 花粉管 伸長이 途中에 停止, 受精이 안된다는 理論이다. S遺傳子는 花粉 즉 配偶體에서 發現되는데 이 유전자와 암술의 두 유전자 (2n)중의 어느 하나가 같을 때에는 不和合이 됨으로, 和合·不和合이 配偶體인 花粉의 genotype에 의해 결정된다.

이 S系 不和合遺傳子에는 突然變異가 잘 일어나 S_1, S_2, S_3, S_4 등 다수의 複對立遺傳子(multiple allele) 관계를 형성하고 있는데, *Nicotiana*屬에는 15개의 複對立 遺傳子群이, red clover에는 41개, white clover는 64개, *Oenothera*屬 植物은 45개나 되는 複對立遺傳子들을 가지고 있다. 그리고 이 複對立遺傳子間에는 優劣性關係가 없고 co-dominance 관계이라는 것이 配偶體型 自家不和合性的의 특징이다.

암술의 不和合遺傳子가 같은 遺傳子를 가지고 있는 花粉管의 伸長을 정지시킨다해서 East와 Mangelsdorf는 離反因子說(oppositional factor hypothesis)로 이 현상을 설명했고 이런 型을 Personaten型이라고도 했다. 또 配偶體(花粉)의 遺傳子構造 여하에 의해 和合, 不和合이 결정되기 때문에 配偶體反應(gametophytic reaction)이라고도 했다. 이것을 配偶子反應이라는 用語를 쓰는 사람이 많은데, 自家不和合性은 암술과 花粉과의 관계이기 때문에 配偶體가 맞는 말이다. 花粉은 配偶體이지 配偶子가 아니다.

자가授粉에서만 수정이 안되는 것이 아니라 自家花粉과 同一한 genotype을 가진 異個體의 花粉도 不和合이 된다. 즉 S_1S_2 個體의 自家授粉이나 S_1S_2 個體間의 交配, S_1S_2 (♀) × S_1S_2 (♂)에서는 S_1 花粉은 암술의 S_1 유전자 때문에, S_2 花粉은 암술의 S_2 때문에 不和合이 된다. S_1S_2 (♀) × S_1S_3 (♂)

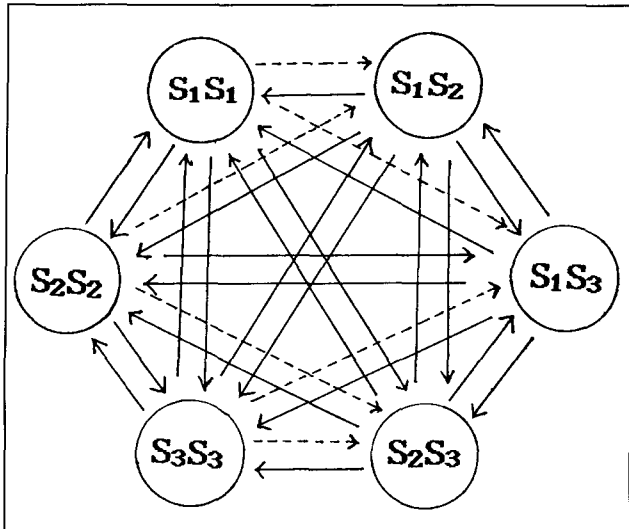


Figure 1. Oppositional factor hypothesis. Dotted lines represent incompatible combinations and solid lines compatible combinations(East).

Table 1. Combinations and seed progenies in the gametophytic self-incompatibility.^a

$S_1 S_2 \times \underline{S_1 S_1}$	→	no seed	incompatible
$S_1 S_2 \times \underline{S_2 S_2}$	→	no seed	incompatible
$S_1 S_2 \times S_3 S_3$	→	$S_1 S_3 + S_2 S_3$	compatible
$S_1 S_1 \times \underline{S_1 S_2}$	→	$S_1 S_2$	compatible
$S_1 S_1 \times \underline{S_1 S_3}$	→	$S_1 S_3$	compatible
$S_1 S_1 \times \underline{S_2 S_3}$	→	$S_1 S_2 + S_1 S_3$	compatible
$S_1 S_2 \times \underline{S_1 S_3}$	→	$S_1 S_3 + S_2 S_3$	compatible
$S_1 S_3 \times \underline{S_1 S_2}$	→	$S_1 S_2 + S_2 S_3$	compatible
$S_1 S_3 \times \underline{S_2 S_3}$	→	$S_1 S_2 + S_2 S_3$	compatible
$S_2 S_3 \times \underline{S_1 S_3}$	→	$S_1 S_2 + S_1 S_3$	compatible
$S_1 S_2 \times \underline{S_2 S_3}$	→	$S_1 S_3 + S_2 S_3$	compatible
$S_2 S_3 \times \underline{S_1 S_2}$	→	$S_1 S_2 + S_1 S_3$	compatible

^aThe underlined indicate incompatible genes.

의 경우는 S_1 花粉은 암술 genotype S_1S_2 와 不和合 관계에 있지만 S_3 花粉은 암술과 和合이 되어 S_1S_3, S_2S_3 의 종자를 만들고 相反交配인 S_1S_3 (♀) × S_1S_2 (♂)에서는 S_2 花粉이 和合성이어서 次代에 S_1S_2, S_2S_3 등이 생긴다.

配偶體型 自家不和合性的 和合, 不和合관계, 遺傳樣式, 次代個體들의 genotype 등을 模式化한 것이 Figure 1, Table 1 이다. 각 genotype 모두 自家受精은 당연히 안 되기에 그림에서 除外했다.

自家不和合性的 遺傳樣式이라는 것이 위에 表示한 것같이 단순하고 정확, 완벽한 것만은 아니다. 대개는 核內 單一 遺傳子座의 複對立遺傳子의 支配를 받는 경우가 많지만 遺傳子座를 한 개 以上 假定해야하는 경우도 있고, S系의 不和合遺傳子以外에 和合을 促進시키는 T系의 複對立遺傳子를 假定해야만 설명이 되는 경우, 그 밖에 變形된 여러

遺傳樣式이 있다. 또한 環境에 의해 발현에 異常이 생기는 수도 있고 染色體의 倍數化, 放射線 照射 등으로 不和合이 消失 되기도 한다.

自家不和合의 정도에도 強弱이 있어 花粉管 伸長이 정지되어 不和合이 완벽한 수도 있지만 自家花粉管的 伸長이 느리기 때문에 시간이 오래 걸릴 뿐이지 결국에는 自家受精이 되는 경우도 있다. 自然狀態에서 自家, 他家花粉이 동시에 授粉되면 和合性的 他家花粉의 花粉管 伸長이 빨라서 他殖種子가 생기게 된다. 自家授粉의 경우 花粉管 伸長이 느려서 그 사이에 胚珠가 崩壞, 不稔이 되는 수도 있다. 완벽한 自家不和合組合에서 가끔 和合이 일어나 種자가 생기는 現象을 pseudo self-incompatibility라고 한다.

自家不和合성은 育種分野에서 F1 品種을 育成하는데 貴중한 遺傳機構인데, 利用을 하려면 S_1S_1, S_2S_2 등 homozygous한 genotype을 만들어야 한다. 그런데 S_1S_2 의 암술에서는 S_1, S_2 의 花粉의 受精이 안되어 homozygous한 S allele 상태의 個體는 理論적으로는 만들 수 없다. 그러나 실지 育種에서는 雌수분 기타 여러 方法을 써서 不和合을 和合으로 轉換시켜, homozygote를 만들어 내서 널리 利用하고 있다.

自家不和合性중에서 다음에 설명하는 造胞體性不和合보다 配偶體型이 월등히 더 많이 연구되었고 配偶體性植物이 실지로도 더 많은지 發見事例도 配偶體型的 것이 더 많다. 造胞體型 自家不和合성은 配偶體性에서 由來되었다고 보고 있는데 그렇게 되면 配偶體型이 原始型인 셈이 된다. 不和合花粉管 伸長이 花柱에서 停止된다고 하지만 그 중에는 管端이 肥大, 破裂, callose栓의 形成 등이 있는 수가 많다.

造胞體性 自家不和合性的 遺傳樣式

自家不和合이 配偶體性的의 경우처럼 花粉의 genotype에 의해 결정되는 것이 아니고 花粉親인 造胞體의 유전자 組成

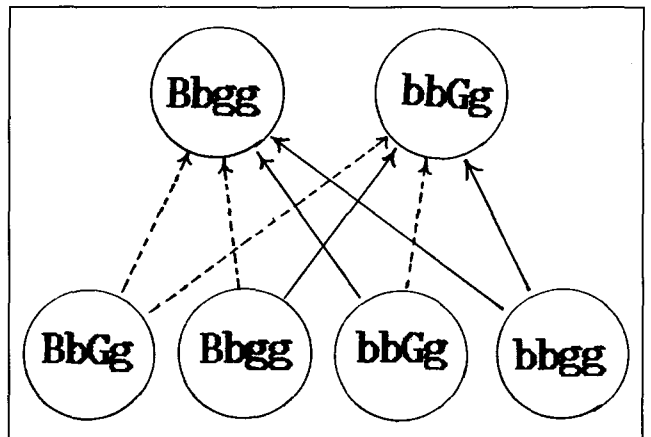


Figure 2. Sporophytic reaction hypothesis. Dotted lines, incompatible; solid lines compatible (Correns).

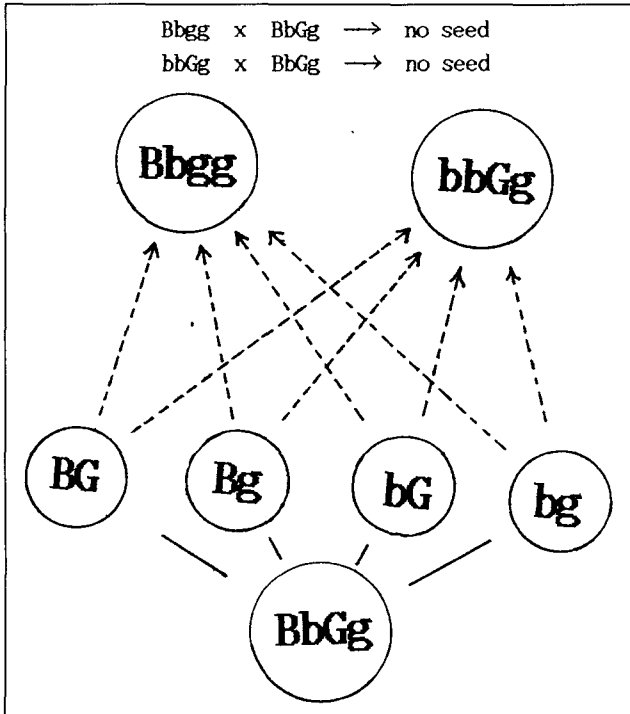


Figure 3. BbGg (♂), backcrossed to parent.

여하에 따라 左右된다. 이와 같이 和合, 不和合이 造胞體反應에 의해 결정된다고 해서 造胞體(芽胞體)性的, 自家不和合이라고 하는데 흔히 *Cardamine* 型이라고도 한다. Correns(1913)는 *Cardamine pratensis*에서 B-b, G-g의 두 쌍의 遺傳子를 假定하고, 花粉을 만드는 造胞體花粉親과 암술과 사이에 共通된 優性遺傳子를 가지고 있을때에 不和合이 된다고 했다. 가령 Bbgg라는 個體와 bbGg와의 교잡에서 생긴 後代 BbGg, Bbgg, bbGg, bbgg 등을 兩親에 각각 backcross시켜보면 兩親 모두에 不和合인 것, 片親에만 和合인 것, 兩親 모두에 和合인 것이 있었다. 이 결과를 보고 造胞體인 花粉親과 암술이 優性因子를 共有하면 不和合이 되고 (Figure 2), 花粉의 genotype여하는 和合, 不和合에 아무 관계가 없다고 假定했다. BbGg를 兩親에 backcross한 Bbgg x BbGg, bbGg x BbGg에서는 모두 不和合이 되어 종자가 안 생긴다. BbGg에서 만들어지는 花粉은 전부 Bbgg나 bbGg에 대해 不和合이 되기 때문이다. BbGg (♂)에서는 BG, Bg, bG이외에 bg라는 花粉이 생기지만 이런 優性因子가 없는 genotype의 花粉도 造胞體 BbGg에서 생겼기 때문에 Bbgg나 bbGg의 암술에 대해서 不和合이 된다 (Figure 3). 花粉의 genotype은 bg이지만 그 phenotype은 genotype BbGg로 된 花粉親이 결정하기 때문에 花粉의 phenotype은 BG가 된다.

造胞體自家不和合性도 다수의 複對立 S 遺傳子群으로 되어 있는데 配偶體性自家不和合성과 다른 점은 S allele 間에 優劣관계가 있는 수가 많다는 것과 花粉自體의 genotype 보

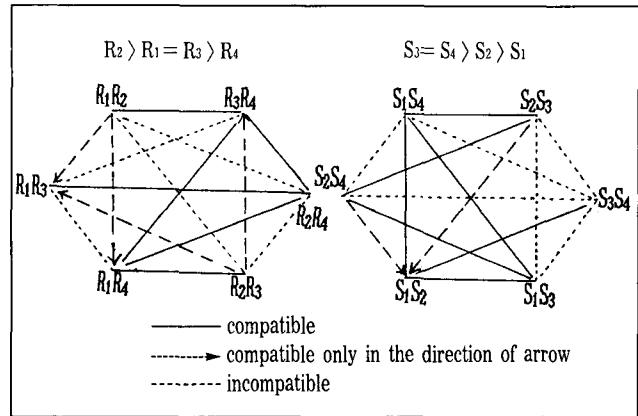


Figure 4. Self-incompatibility in *Crepis* (Gerstel).

다 花粉을 만들어 낸 造胞體의 genotype에 의해 和合, 不和合이 결정된다는 것이다. 즉 減數分裂에 의해 생긴 花粉은 각각 고유의 genotype을 가지고 있겠지만 花粉은 花粉親造胞體 genotype의 優性遺傳子의 支配를 받아 여성유전자의 phenotype을 나타낸다. 이제 配偶體型的 경우에서와 마찬가지로 S₁, S₂, S₃, S₄ 등 複對立 S系 유전자가 관여한다고 하고, 이때에 S₁ gene은 S系列의 다른 모든 gene에 대해 優性, S₂는 S₁ 이외의 다른 對立遺傳子들에 대해 優性이라고 假定하면 花粉親 S₁S₂에서는 S₁, S₂ genotype의 花粉이 생기지만 phenotype으로는 S₁으로 나타남으로 S₂花粉도 S₁과 같은 行動을 한다. 그런데 이런 현상은 花粉에서 뿐이고 암술에서는 특별한 예를 除外하고는 配偶體性 自家不和合의 S系列에서와 같이 對立遺傳子間에 優劣관계가 없다.

이제 S allele 間의 優劣관계와 和合, 不和合의 例 몇을 들어 보기로 한다. S₁S₂ (♀) x S₁S₃에서는 S₁이 S₃에 대해 優性이고 花粉親造胞體 S₁S₃의 영향을 받기 때문에 S₁, S₃ 花粉 모두 phenotype이 S₁과 같이 나타나고 암술에는 S₁ gene이 있어 S₁, S₃ 花粉 모두 不和合이 되어 종자가 안 생긴다. S₁S₂ (♀) x S₂S₃에서는 S₂ 花粉, S₃ 花粉이 생기지만 S₂가 S₃에 대해 優性이어서 S₃ 花粉도 S₂와 같은 phenotype으로 나타난다. 암술에 S₂가 있기 때문에 이 경우에도 不和合이 된다. Gerstel (1950)은 *Crepis*에서 4쌍의 複對立遺傳子를 假定하고 이들에 優劣관계가 있고 優劣은 花粉에서만 나타나고 암술에는 관여하지 않는다는 假定下에 Figure 4의 模式과 같은 和合, 不和合관계를 표시했다.

配偶體性 自家不和合 system에서는 自家受精이 안되어 S₁S₁, S₂S₂ 같은 homozygote가 쉽게 생기지 않는다고 앞서서 言及한 바 있는데, 造胞體性的 system에서는 사정이 좀 다르다. 가령 S₂S₃ (♀) x S₁S₂의 경우 S₁S₂ 花粉親에서 S₁이 S₂에 대해 優性이어서 S₂ 花粉도 S₁과 같은 phenotype으로 나타나서 S₂S₃ 암술에 대해 和合花粉이 된다. 次代에는 S₁S₂, S₁S₃, S₂S₃ 등과 더불어 S₂S₂의 homozygote도 태어 날 수 있다.

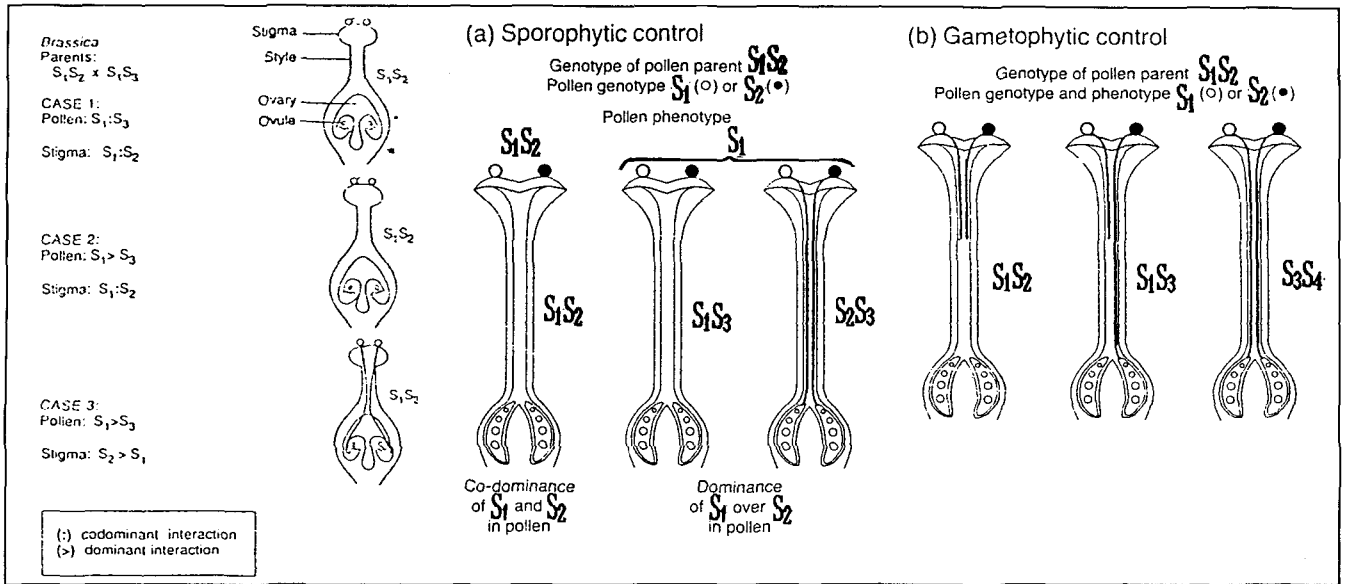


Figure 5. Sporophytic control of pollen reaction in *Brassica* (left, Nasrallah) and comparison of sporophytic and gametophytic control (Tompson and Kirch, 1992).

앞에서 造胞體 器官인 藥에서는 對立遺傳子間에 優劣關係가 있고 암술에는 그런 현상이 없는 경우를 例로 들어 설명했는데, 이것은 造胞體性 自家不和合性의 代表的인 사례이지, 例外는 얼마든지 있다. 가령 *Brassica*屬의 경우 Figure 5의 左側 그림중 두번째의 것은 典型的인 예이지만 첫번째의 경우는 S_1 과 S_3 gene이 co-dominance ($S_1:S_3$) 관계에 있어 S_1 , S_3 花粉의 phenotype이 모두 S_1S_3 로서 암술과 花粉親이 S_1 을 共有하기 때문에 不和合이 된다. 또 맨 밑의 예는 花粉親에서 $S_1 > S_3$ 식으로 優劣關係가 있을뿐아니라 암술에서도 S_2 가 S_1 에 대해 優性이 되어, 결국 암술.花粉親이 S_1 gene을 共有하지만 phenotype으로는 花粉은 S_1 , S_3 가 모두 S_1 으로, 암술의 phenotype은 S_2 가 되어 完全 自家和合, 次代에 S_1S_1 , S_1S_2 , S_1S_3 , S_2S_3 등 여러 genotype의 종자를 1:1:1:1의 比率로 만들어 낸다.

十字花科에서는 *Capsella*, 양배추 등의 自家不和合성이 *Nicotiana*屬과 비슷하게 나타나서 이것을 처음 配偶體性으로 잘못 인식했다. Bateman (1954, 1955)은 *Iberis amara*의 연구에서 十字花科植物의 自家不和合은 造胞體性이고 單一遺傳子性 複對立型이고 對立遺傳子間에는 優劣關係가 있는 것, co-dominance關係가 있는 것 등 여러 變形이 있다는 것을 밝혔다(Figure 5). 十字花科의 自家不和合이 造胞體性支配를 받는다는 것은 무우, 케일을 비롯한 *B. oleracea*, *B. campestris* 등에서도 여러 사람에 의해 확인되었다.

十字花科의 對立遺傳子間의 優劣關係를 보면 *Raphanus sativus*에서는 花粉에 優劣이 있고 *R. raphanistrum*에서는 花粉에는 優劣이 있고 암술에는 드물게 있고 *Iberis*에는 花粉, 柱頭 모두에 優劣이 있다. 대체로 十字花科에서는 60%가 co-dominance의 發現을 하는데 配偶體性 自家不和合性인

*Nicotiana*屬에서는 全部 co-dominant이고 優劣이 전혀 없다는 것과 좋은 對照를 이루고 있다. S-allele에서의 複對立遺傳子의 수는 配偶體性에서처럼 많아서 *Iberis*는 22개, *R. raphanistrum*이 25-34개, *B. oleracea*는 60 개나 된다.

Figure 5 右側의 그림은 對立遺傳子間의 優劣, 花粉의 genotype과 phenotype, 花粉의 不發芽, 花粉管 伸長停止 등을 造胞體性과 配偶體性間에 비교한 것이다.

自家不和合, 和合, 配偶體性, 造胞體性 등 두 System이 생기는 理由

自家不和合성은 強弱의 차이는 있지만 他殖性被子植物 거의 全般에 걸쳐 있는 現象이고 또 이들 식물이 配偶體性의 것, 造胞體性 自家不和合을 나타내는 것으로 나누어져 있다. 가령 配偶體性에 속하는 것으로는 장미科, 콩 科植物, *Petunia* · 감자 · 담배 등 茄子科植物들, *Oenothera*, 냉이, clover, 禾本科, 그리고 대부분의 果樹류가 있다. 造胞體性의 것으로는 *Cosmos* · *Crepis* · 해바라기 등 菊科, 大部分의 十字花科植物, 禾本科, 고구마 같은 메꽃科 등이 있다. 그러나 이런 區別이 뚜렷한 것은 아니다. 같은 科에 屬하는 것이지만 어떤 植物은 自家和合性, 다른 것은 不和合性이 있고 어떤 식물은 配偶體性, 다른 것들은 造胞體性에 屬하는 경우가 있다.

흔히들 配偶體性 自家不和合성은 茄子科植物, 造胞體性은 十字花科植物이라고 믿고 있는데 이것은 처음 담배屬 등 茄子科植物에서 配偶體性의 自家不和合性이, 또 *Cardamine* 등 十字花科植物들에서 造胞體性 不和合性이 발견되었기 때문이지 이런 分類가 엄격한 것은 아니다.

配偶體性自家不和合성이 되느냐 造胞體성이 되느냐는 不和合系列 S유전자가 언제 발현되느냐에 달려 있다. 이 유전자의 發現에 의해 生化學的 物質이 생기고 이 物質에 의해 不和合反應이 생기는데 이 物質이 언제 생기느냐에 따라 配偶體性, 造胞體성이 결정된다. 初創期에 Pandey (1958)는 減數分裂이 끝나 4分子期에서 花粉 分化될 무렵 즉 核相이 n 性일때 S유전자가 발현되면 配偶體성이 되고 4分子期가 되기전인 減數分裂期 즉 $2n$ 期에 이 유전자가 발현되면 造胞體성이 된다 하였는데 이런 推定은 그럴 듯하지만 이 說明이 맞는지 안맞는지는 後記의 分子 level의 不和合에서 再論하기로 한다.

和合, 不和合이 特定遺傳子の 발현때문이고 이들 유전자의 발현시기가 小孢子형성 前이나 後이나에 따라, 아니면 유전자의 發現이 配偶體에서인가 造胞體에서인가에 따라 造胞體性, 配偶體성이 결정된다. 유전자의 발현은 환경의 영향을 받아 異常이 생길 수 있기 때문에 不和合이 和合으로, 配偶體성이 造胞體性으로 변한다 해서 異常한 것은 아니다. 앞에서 言及한 바와 같이 植物生殖樣式에는 自家受精을 택한 것도 있지만 대부분의 被子植物은 他家의 授粉·受精을 취하고 그 과정에서 強弱은 있지만 自家不和合樣式도 동시에 택했다. 그 중 일부 식물처럼 不和合이 극도로 進行되어 和合, 不和合, 造胞體性, 配偶體성이 뚜렷하고 不可逆적으로 된 것도 있지만 일부 식물에서처럼 그 限界가 不分明한 것도 있다. 不和合性 遺傳樣式 설명에 흔히 引用되는 事例는 前者와 같은 遺傳機構가 극도로 進化된 뚜렷한 特定植物을 대상으로 한 것이다.

自家不和合性的 發現은 *Brassica*, *Nicotiana*의 例에서 보듯이 發育, 發生과정중에 調節된다. 즉 developmentally regulated 된다고 말 할 수 있다. 가령 *Brassica*에서 보면 開花 2日前에는 아직 자기 花粉을 拒否하지 않아서 自家授粉에서 自殖種子가 생기고 또 *Nicotiana*에서도 開花 3日前에는 不和合인 자기 花粉이라도 和合이 되다가 開花 2日前부터 점점 不和合으로 변해간다. 不和合이 나타나는 양상을 *Brassica*의 例에서 보면 和合에서 不和合으로의 轉換이 일시에 급격히 나타난다. 즉 柱頭的 그 많은 乳頭突起 細胞들이 거의 동시에 급격히 不和合으로 轉換된다는 것이다.

不和合花粉과 암술 粘液 및 callose 栓

花粉이 柱頭に 묻으면 水化作用(hydration)으로 花粉의 蛋白質이 溶解되면서 花粉은 발아되고 柱頭조직으로 侵入, 花粉管은 花柱를 통해서 子房쪽으로 伸長해 내려간다. 花柱가 solid style인 경우에는 通導組織의 細胞間隙을 통해서 進行한다. 通導組織의 세포들은 모양이 縱으로 길게 되어있고 세포와 세포사이의 間격에는 粘液(mucilage)이 充滿해 있는데 이 粘液는 通導組織細胞들에서 分泌된 것이다. 花粉管은 이 粘液를 통해서 밀로 내려간다 (Figure 6). 花柱는 대개

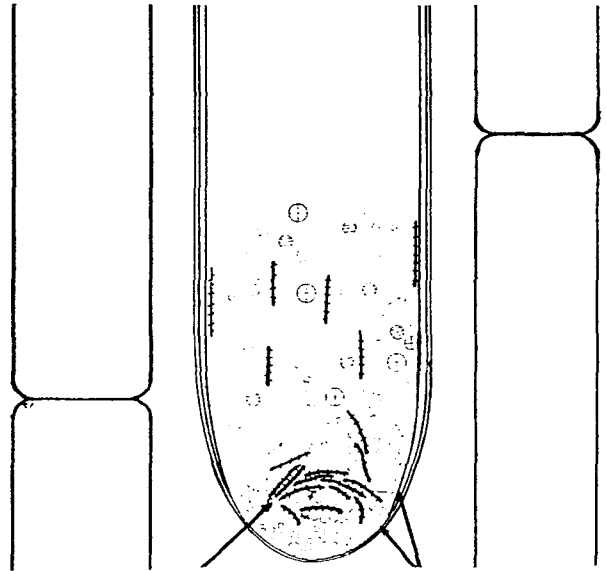


Figure 6. Diagram of a pollen tube tip growing in the extracellular mucilage between the cells of the transmitting tract. The mucilage contains S-glycoproteins secreted from these cells, which is in direct contact with the surface of the pollen tube (Haring et al., 1990).

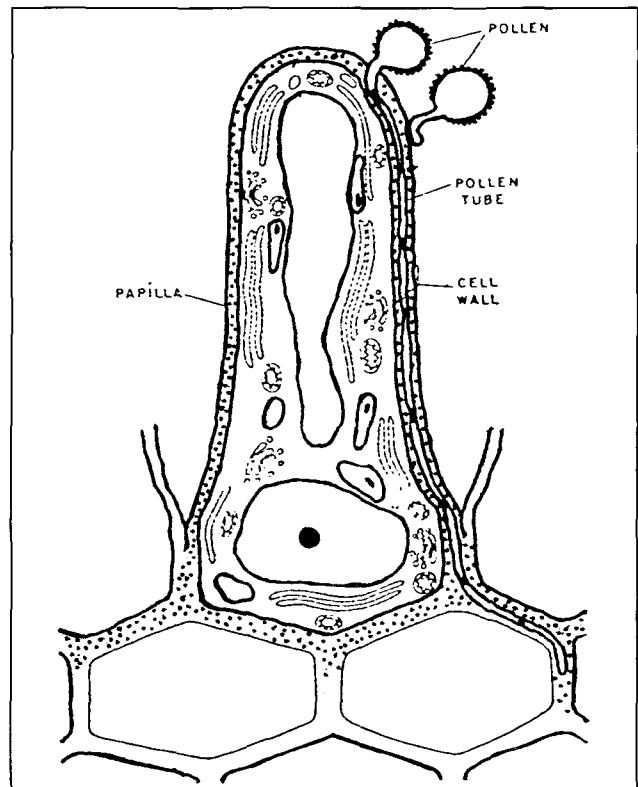


Figure 7. Schematic diagram of a stigmatic papilla of *Brassica* showing pollen tube growth inside the wall for compatible pollen and inability to invade the wall in the case of incompatible pollen. The stippling represents the distribution of S-locus-specific glycoprotein in the wall (Nasrallah).

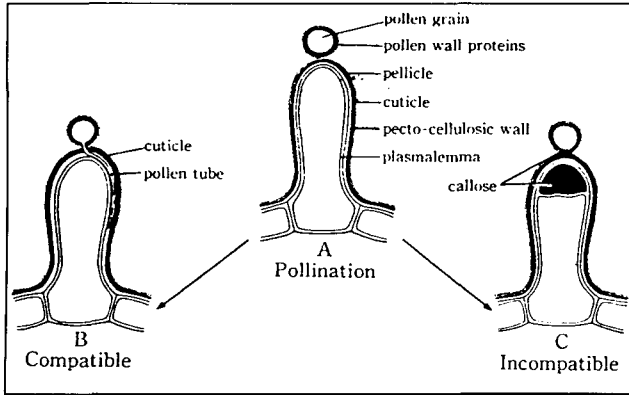


Figure 8. Pollen-stigma interaction in the plants of Crucifere and Compositae (Shivanna).

는 solid form이지만 hollow style(中空型 花柱)도 있는데 이때에는 花粉관이 中空花柱 內表皮의 表面을 통해서 伸長한다. 이 中空花柱의 內表皮 表面에는 粘液이 깔려 있어 mucilage-lined canal로 되어 있다.

配偶體型 自家不和合植物에서는 花柱 通導組織에서 分泌되는 粘液과 花粉관이 접촉되면서 伸長이 停止되고 造胞體 system에서는 花粉은 柱頭 乳頭 突起에 分泌된 粘液과 접촉, 花粉發芽 또는 管伸長을 멈춘다. 配偶體 system의 自家 不和合성을 가지고 있는 *N. alata*에서는 암술의 S-locus에서 만들어진 物質이 花柱 粘液에 分泌되고 造胞體型的 *B. oleracea*에서는 S-locus에서 만들어진 物質이 乳頭突起 細胞의 세포막에 축적 또는 細胞 表面에 分泌되어 粘液에 섞이는데 이 物質이 후에 설명하는 glycoprotein이다. Figure 7은 *B. oleracea* 乳頭細胞에 授粉된 和合花粉은 세포막의 pectocellulosic layer를 통해서 花粉관을 신장시키지만 不和合花粉은 侵入을 못한다는 것을 模式化 한 것인데, 세포막내에 散在해 있는 점(stippling)들은 S-locus specific glycoprotein이다. 造胞體型인 *Brassica*의 不和合 花粉이 柱頭に 묻으면 흔히 水化作用이 안 생겨 不和合 反應이 생기는데, 이런 경우 生理的으로 不和合을 克服하는 수도 있다. 花柱를 高溫 處理한다거나 未熟柱頭に 授粉시킨다든가 花柱를 tunicamycin처리한다든가 하는 것이 그 방법들인데, 後者は 단백질 glycosilation에 필요한 것이다.

不和合花粉이 授粉되었을 때에 암술에 나타나는 변화 중의 하나는 β -1,3 glucan callose의 축적인데, 配偶體型에서는 花粉管伸長 도중 管端에 callose 栓이 생기고 造胞體型에서는 花粉이 柱頭に 접촉 후 생긴다(Figure 8). 그러나 이런 現象이 절대적인 것은 아니고 不和合授粉이라고 해서 반드시 callose 栓이 형성되는 것은 아니다.

茄科나 장미科 등 配偶體性 自家不和合에서는 不和合 花粉관이 花柱內에서, 十字花科, 菊科, 禾本科 등 造胞體性 不和合에서는 柱頭에서 抑制된다. 이제 不和合性 自家花粉과 암술과의 相互作用을 *Brassica*나 *Raphanus* 등 十字花科

를 實例로 해서 적어보면 다음과 같다. *Brassica*屬의 柱頭는 乾燥型이고 分泌物(exudate)은 없다. 和合花粉은 柱頭 突起 細胞 表面에 부착, 水化, 發芽, 花粉관이 cuticle로 침입, 乳頭 突起 細胞膜안으로 伸長해서 花柱 細胞間隙으로 伸長해 내려간다. 그러나 不和合花粉은 보통 發芽가 안 되고 發芽가 되어도 정지된다. 花粉과 柱頭가 接觸한지 數分以內에 抑制가 일어난다(Figure 7, 8). 이 경우에는 相互作用이 花粉과 柱頭的 乳頭突起細胞間에 일어나는데, 花粉접촉지점에 β , 3-glucan callose가 축적된다. 그러므로 乳頭突起 細胞의 除去나 柱頭 表皮層의 切除 등으로 不和合花粉을 和合化, 受精, 自殖種子를 얻을 수가 있다.

乳頭突起細胞는 單細胞이고 *Brassica*의 柱頭表面에는 이런 乳頭細胞가 약 3,000個나 있다. 앞에서 *Brassica*의 不和合 花粉관이 乳頭細胞膜의 pectocellulosic layer로 伸長하다가 정지되든가 아예 花粉發芽도 되지 않는다고 했는데 後者の 경우는 抑制物質(glycoprotein)이 乳頭細胞 表面으로 分泌되어 나오기 때문이다.

認識(Recognition)과 拒否(Rejection)

種자가 생기고 나아가서는 果實이 생기는데, 종자·과실이 형성되려면 수정이 일어나야 한다. 수정이 되려면 암술 주두에 묻은 화분이 花粉관을 伸長시켜 화분에 있는 두 雄性配偶子, 즉 精細胞를 卵細胞와 極核이 있는 곳 까지 운반을 해 주어야 한다. 그런데 柱頭に 화분이 와서 부착되었다 해서 반드시 이 화분에서 화분관이 신장되어 수정이 가능하게 되는 것은 아니다. 화분이 수정을 할 수 있고 못하는 것은 암술의 柱頭와 화분과의 상호認識에서 암술이 화분을 받아들여느냐 거부하느냐에 달려 있다. 그러므로 수정의 첫 관문은 花粉·柱頭간의 認識(pollen-pistill interaction) 여하에 달려 있다고 할 수 있다.

만일 암술이 화분을 和合性(compatible)의 것이라고 인식하면 화분은 곧 발아하고 화분관이 花柱內를 신장해 내려가고 胚囊에 도달하면 管端이 파열, 精細胞를 방출한다. 화분이 不和合性的의 것이면 발아가 안되든가, 주두 침입을 못하든가, 화분관 신장이 도중정지 된다든가 한다. 그리고 화분을 받고 안받고 하는 선택은 卵細胞가 하는 것이 아니고 雌藥 組織이 결정한다.

花粉과 柱頭間的 認識, 암술에 의한 花粉의 迎入, 拒絶 즉 和合, 不和合은 花粉蛋白質과 암술단백질과의 相互作用이라고 할 수 있다. 앞에서도 언급했지만 대체로 造胞體性 自家 不和合 現象에서는 不和合花粉을 인식하고 이것을 거부하는 것은 柱頭에서이고 이때 화분의 外膜 蛋白質과 柱頭的 pellicle단백질이 관여한다. 配偶體性 自家不和合에서처럼 花粉管 伸長이 花柱에서 정지되는 型에서는 확실하지는 않지만 閉鎖型 화주의 경우 인식과 거부간에 장소와 시간적으로 차이가 있는 것 같다. 즉 授粉 직후에 주두에서 認識反

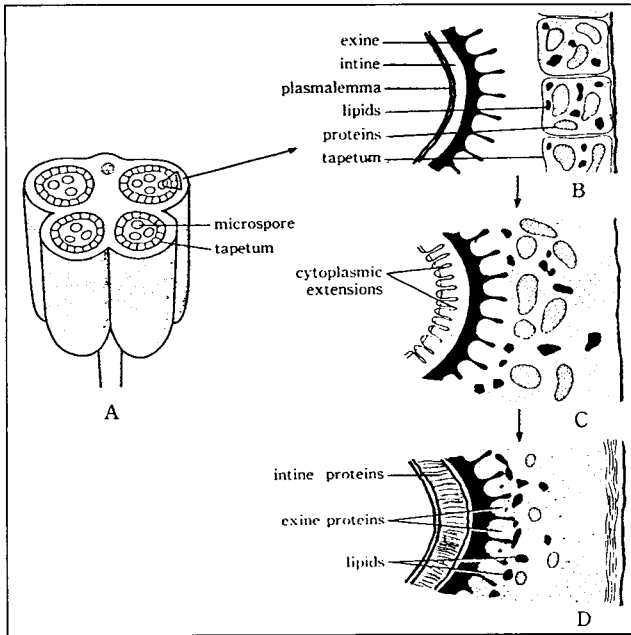


Figure 9. Intine protein and exine protein of pollen. Exine protein is tapetum-origin (sporophytic), while the intine protein is derived from the pollen cytoplasm (gametophytic) (Shivanna).

應이 있고 여러 시간 후에 花柱에서 거부반응이 일어난다. 이 형에서는 造胞體型과는 달리 인식에 花粉의 內膜蛋白質과 柱頭蛋白質이 관련된다.

配偶體型에서 認識反應은 柱頭에서, 그리고 몇 시간후 거부반응이 일어난다고 했는데, 이것은 古典學에서의 推定에 지나지 않는다. 配偶體型的 認識과 거부에 관한 새로운 지식은 分子level의 篇을 참고하기 바란다.

中空花柱를 가진 식물에서는 閉鎖花柱와는 달리 주두는 인식에 별 역할을 하지 않는 것 같다. 즉 인식과 거부가 모두 花柱에서 일어난다는 것이다. 그리고 中空花柱에서는 花粉壁의 단백질과 주두단백질이 인식에 관여하는 것이 아니고 花粉관 내에 합성된 단백질과 花주내에 新生된 또는 既存의 단백질이 인식과 거부에 관여한다.

이제 花粉蛋白質, 柱頭分泌物 및 蛋白質 등에 대해 좀 더 자세히 생각 해 보기로 한다.

花粉의 蛋白質

花粉이 柱頭に 부착한 후 hydration과 더불어 花粉壁의 단백질이 溶出되어 柱頭表面에 붙게 되는데 外膜蛋白質(exine protein)이 먼저 흘러나오고 그 뒤에 內膜蛋白質(intine protein)이 녹아 나오는 순서로 되어 있다. 이런 花粉壁蛋白質의 流出은 immunofluorescence test나 組織化學 檢査로써 확인할 수가 있다.

花粉은 두 종류의 內外膜壁으로 둘러싸여 있는데 外膜

(exine)은 sporopollenin이 주성분이고 內膜(intine)은 pectocellulose로 되어 있다. 外膜은 복잡한 구조로 분화되었는데, 外廓은 조각한 것 같이 되어 있어 이것을 sexine, 안쪽의 非彫刻性層을 nexine이라고 한다.

花粉의 內外膜에는 많은 단백질이 함유되어 있는데 이 단백질 중에는 여러 종류의 hydrolytic protein 또는 花粉 allergy症을 일으키는 것도 있다. 內膜 단백질은 주로 發芽孔(germpore)부근에 있고 外膜의 단백질은 外膜彫刻부위에 있다. 花粉 內·外膜의 단백질은 습기를 만나면 쉽게 용해된다.

그런데 內·外膜의 단백질은 그 起源이 다르다. 內膜의 것은 小胞子の 細胞質에서 유래되었기 때문에 出處의 起源이 n 性的 配偶體이고, 外膜 단백질은 小胞子를 둘러싸고 있는 葯의 tapetum層에서 왔기 때문에 2n 性 造胞體가 기원이 되는 셈이다(Figure 9). 內膜蛋白質 형성과정을 보면, 4分子에서 小胞子가 방출되면 花粉內膜이 형성되는데 이때 原形質膜에서 방사형으로 管狀體가 내막에 침투된다. 그런데 이 管狀體에 단백질이 포함되어 있다.

한편 小胞子母細胞의 減數分裂 기간에 tapetum 조직에는 단백질과 lipid가 축적된다. tapetum조직은 小胞子가 花粉으로 분화됨에 따라 붕괴되어 花粉의 영양으로 되는데 단백질의 일부는 花粉의 外膜彫刻紋에 싸인다.

이와 같이 내막 단백질은 雄性配偶體의 세포질에서 오고 외막 단백질은 造胞體 tapetum세포질에서 유래되는데, 이런 起源의 차이가 花粉·주두간의 인식이나 融合여부에 영향을 미치고 配偶體, 造胞體 두 型的 自家不和合성과 밀접한 관계가 있다.

雌藥 柱頭的 分泌物

柱頭는 두 종류로 구분할 수 있는데, 하나는 柱頭表面(receptive surface)이 分泌物(exudate)로 덮여서 습하게 된 濕潤型(wet type)이고 다른 하나는 말라 있는 乾燥型(dry type)이다. 그러나 이 두 類型간에는 여러 정도의 中間型이 많아서 더 세분할 수도 있다.

柱頭分泌物이 어디서 생겨났고 그 조성이 어떠한지는 소

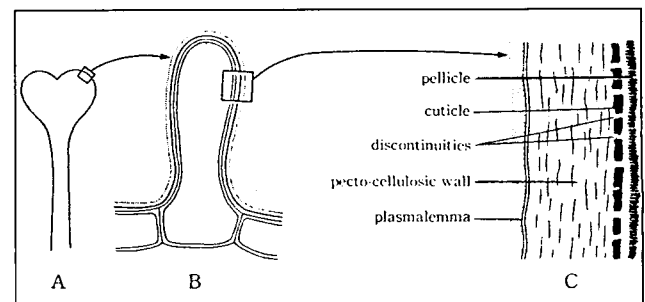


Figure 10. Structure of stigmatic papilla (Shivanna).

수의 식물에서만 조사되었기 때문에 확실하지가 않다.

*Petunia*에서는 분비물이 주두조직의 세포에서 분비되는데 이것이 세포표면의 cuticle을 뚫고 나와 柱頭 표면에 축적된다. 이와는 반대로 *Lilium*에서는 주두 표피세포에서 아니고 中空花柱의 canal cell에서 분비되어 화주 空隙을 통해서 흘러 나와 주두표면에 축적된다.

分泌物の 조성도 식물에 따라 차이가 있고 다양하다. lipid, 炭水化物, phenol 化合物, 단백질 등이 있지만 조성이 일정하지 않다. *Petunia*에서는 분비물이 주로 lipid로 되어 있고 발아되는 화분의 영양역할을 하지 않지만 *Lilium*에서는 많은 炭水化物和 소량의 단백질로 된 水溶液상태로서 발아에 영양이 된다. 炭水化物중에는 arabinose가 대부분이다. 분비물을 화분배양 배지에 첨가하면 화분의 발아와 화분관 신장이 촉진도 되고 화분관에 의해 이용도 된다. lipid는 화분을 부착시키고 주두를 過乾過濕에서 보호하는 역할을 한다. phenol化合物은 病菌이나 害蟲의 害를 막고 화분의 영양도 된다.

乾燥型 주두에는 분비물이 없고 cuticle로 덮여 있다. 그리고 pellicle이라고 하는 蛋白質性 物質이 cuticle의 표면을 덮고 있는데 이 물질이 어디서 기원되는지 古典學的 지식만으로는 확실하지 않다. 不連續的으로 되어 있는 cuticle의 孔隙을 통해서 주두 표면으로 나오는 것 같다. Figure 10에 주두(A)의 乳頭突起(B)의 일부를 확대해서 (C)외곽에 pellicle이 축적되고 cuticle이 不連續的으로 되어 있는 것, 그리고 pecto-cellulose wall등을 표시했다. pellicle은 濕潤型 주두의 분비물인 exudate에 해당되기 때문에 乾燥型 주두도 진정한 의미에서는 아주 말라 있는 상태는 아니다. 주두 표면의 단백질은 그것이 exudate의 조성분이건 pellicle의 것이건 花粉·柱頭간 상호작용에 있어서 중요한 역할을 한다. *Brassica* 柱頭 表面 pellicle에 존재하는 단백질은 後記하는 S-locus specific glycoprotein (SLSG)에 해당된다.

花粉, 花粉管 伸長과 雌藥의 變化

乾燥型 柱頭에서는 pellicle이 花粉 蛋白質을 받아들이는 역할을 한다. 화분 단백질이 柱頭的 pellicle과 결합을 하면 pellicle의 그 부위가 달라지는데, 이로써 주두가 화분을 인식하게 되고 그로 인해서 화분과 주두의 乳頭突起가 활성화 된다. 만일 雌藥에 대해 화분이 화합의 것이면 花粉管이 나와서 乳頭突起 細胞의 cuticle과 접촉하게 된다. cuticle의 접촉부는 溶解(erode)되고 화분관은 pecto-cellulosic wall로 들어가고 신장해 내려간다. 화분이 주두에 부착한 후 화분관이 유두돌기로 들어가는 시간은 빨라서, 일반 植物에서는 30분이내에 일어난다.

濕潤型 柱頭에서는 分泌物이 주두에 생길 무렵에 cuticle은 보통 파열된다. 화분관은 pecto-cellulosic layer를 통해서 柱頭組織으로 들어간다. 花柱가 中空으로 된 것에서는 주두

표면이 花柱의 canal과 직결되어 있다. 百合에서는 exudate가 분비될 때에 花柱 canal의 cuticle이 파열되는데 이로써 화분관은 exudate의 濕浴下에 canal 표면을 신장해 내려간다. *Crocus*에서는 주두의 유두돌기나 화주 canal의 cuticle이 파열되지 않는데, 화분관은 주두의 cuticle을 뚫고 들어가 canal細胞와 cuticle을 통해서 신장해 내려간다. 화주가 폐쇄(solid)되어 있는 식물에서는 화분관이 通導組織의 細胞間質을 통해서 신장한다.

화분관 신장에 필요한 營養은 雌藥에서 얻는다. *Aegle*, *Fritillaria*, 백합같은 中空花柱에서는 授粉이 되지 않은 花柱組織에는 澱粉이 많으나 화분관이 신장하면 전분이 溶解되는데, 이 것은 전분이 화분관의 영양으로 이용된다는 것을 뜻한다. 이런 炭水化物은 花粉管壁 物質 合成에 이용된다.

授粉이라는 현상 자체가 雌藥에 여러 가지 生理的 變化를 일으키는 것 같다. 呼吸에 變化를 일으키고, RNA나 단백질 합성의 패턴에 變化를 일으키고, 여러 酵素의 活性을 증가시킨다. 화분관이 화주로 들어가기도 전에 이런 生理的 變化가 연속적으로 일어난다. 또 授粉 후 數分 이내에 和合花粉, 不和合花粉의 영향이 子房基部에 벌써 나타난다. 胚囊의 두 助細胞 중의 하나는 화분관이 胚珠內로 침입하기도 전에 쇠퇴해 버리는데, 이것은 어떤 자극이 花粉管 伸長보다 선행해서 암술에 반응을 일으키게 하고 화분관 신장에 지장이 없도록 하게 한다고 생각할 수 있다.

花粉壁의 蛋白質과 不和合性

花粉壁의 단백질은 앞에서 언급했듯이 內膜蛋白質과 外膜蛋白質의 두 종류로 구분되는데, 전자는 花粉의 細胞質에서 유래되었기 때문에 配偶體性이고 후자는 藥壁의 tapetum由來이기 때문에 그 起源이 造胞體性이다. 그런데 內膜 단백질은 配偶體型 自家不和合성과 관련이 있고 外膜의 단백질은 造胞體型 自家不和合과 관계가 있는 것으로 보고 있다.

花粉이 柱頭に 부착되면 그것이 和合성이건 不和合성이건 花粉壁 단백질은 柱頭로 흘러가서 柱頭 표면의 단백질과 접촉이 된다. 화분과 雌藥가 和合성이면 화분은 發芽하고 花粉管이 주두로 들어가고, 불화합이면 雌藥은 거부반응을 나타낸다. 거부반응은 식물에 따라 樣相이 다르고 일률적이지 않다.

造胞體型 自家不和合性인 *Raphanus*, *Iberis*, *Cosmos* 등에서는 화분이 발아가 안되든가 발아가 되더라도 화분관이 乳頭突起 papilla의 cuticle을 침범할 정도이고 유두돌기를 뚫고 들어가지 못한다. 그리고 花粉管端에는 callose가 蓄積되어 木栓化되어 버린다. 이렇게 보면 전에 생각했던 것처럼 cuticle이 和合, 不和合에 절대적으로 관련이 있는 것 같지는 않다. 不和合花粉管이라도 cuticle을 뚫고 伸長하는 수가 많기 때문이다. 柱頭 乳頭突起 자체도 거부반응을 나타낸다.

花粉粒이 접촉되면 유두돌기에 callose가 축적되는데, callose가 생기는 장소는 plasmalemma와 pectocellulosic layer와의 중간부위이다(Figure 8C). Callose축적은 不和合성에 특이한 것으로서 授粉 3-6시간후에 생기지만 *Cosmos bipinnatus* 에서는 callose plug가 授粉 15분만에 생긴다고 한다.

불화합화분의 외막단백질을 추출해서 주두에 묻혀 주두가 또는 tapetum 組織片을 주두에 부착시켜도 주두는 거부 반응을 나타낸다. 이것은 花粉壁 外막단백질이 인식과 거부 반응에 직접 관련이 있다는 것을 말해 준다. 외막단백질은 造胞體組織인 tapetum에서 起源되는 고로 이런 사실은 조포체성 자가불화합성의 遺傳機構의 존재를 입증해 주기도 한다. 配偶體性 不和合에서는 化분관 신장이 花柱 내에서 정지되는 고로 化분에 의해 주두가 어떤 반응을 나타내는 지 조사하기가 힘들지만, 禾本科는 배우체성 자가불화합인 데도 化분관이 주두에서 억제되기 때문에 化분과 주두와의 관계를 알아보는 데 편리한 재료이다.

禾本科에서는 不和合授粉 후에 柱頭 乳頭突起에 callose의 축적현상이 없다. 그 대신 callose가 化분관에 생긴다. 花粉壁의 외막단백질이 주두에 접촉해도 거부반응은 없다. 그러나 花粉內膜단백질의 溶出은 곧 거부반응을 유발한다. 이와 같이 禾本科 不和合授粉에서는 化분내막단백질의 방출이 雌藥의 인식과 거부의 요인이 되는데 인식반응은 授粉 數分후에 나타나고 거부 또는 受容反應은 10분 이내에 나타난다.

乾性 柱頭 Pellicle內的 物質

乾性柱頭 表面에 있는 pellicle 또는 단백질을 효소로 제거하면 花粉이 發芽는 하지만 和合花粉일지라도 花粉管이 乳頭突起로 침입을 하지 못한다. 化분의 cutinase system이 원활히 작동하는 데는 pellicle에 있는 어떤 요인이 필요한 것 같다. 柱頭 表面 특히 pellicle에는 化분을 영입하는 receptor가 있는데, 이 receptor는 여러 組成分으로 구성되어 있어 일부는 化분의 發芽, 일부는 花粉管의 침입에 관여하는 것 같다. 柱頭에는 S allele에 특이적으로 작용하는 단백질이 있고 주두의 水溶性 物質도 自家花粉은 억제하고 他家花粉은 억제하지 않는 선택성이 있는데 이런 물질들은 모두 pellicle에서 방출되는 것 같다.

自家不和合성에 대한 生理·生化學적 研究

自家不和合이 왜 생기는가에 대한 生理·生化學的 설명을 初創期부터 年代順으로 적어보되 이것을 古典的인 思考와 最近의 進歩로 나누어 설명하기로 한다. 처음에는 自家和合을 阻害하는 物質(oppositional substance)이 있기 때문이라고 推測하기도 하고 花粉管 伸長을 자극하는 물질의 결실을 주장하기도 했다. 그 후 自家花粉管 伸長 抑制物質은

子房에서 柱頭를 향해 上昇하는데 開花前에는 이 물질이 아직 形成되지 않고 開花期가 지나면 消滅된다는 생각을 했는데 이런 推定에 立脚, 뇌수분이나 遲延授粉에 의해 自家不和合을 和合으로 轉換, 自殖種子를 얻어 실지에 이용하기도 했다.

암술은 授粉된 花粉을 認識, 이것을 迎入 또는 拒否하는데, 花粉과 암술間에 蛋白質의 親和性이 중요한 役割을 할 것이라고 생각했다. 配偶體性 自家不和合에서는 花柱內에서 花粉管 伸長이 抑制되는데 Linskens(1959)는 和合, 不和合授粉間에 花柱에 형성되는 蛋白質의 종류가 다르다고 하였고 Lewis(1965)는 配偶體性에서 역시 花柱와 花粉管 兩者間에 각각 dimer가 생기고 同一 dimer間에 결합, tetramer가 되면서 花粉管 伸長이 抑制된다고 하였다.

造胞體性 自家不和合에서는 花粉이 柱頭에서 발아가 안 되던가 發芽가 되어도 柱頭 조직안으로 侵入을 못하는데 Christ(1959)는 自家 授粉된 花粉의 cutinase가 柱頭에서 抑制되던가 아니면 他家花粉의 cutinase가 柱頭に 의해 活性化됨으로 和合, 不和合이 결정된다고 했다. Schlosser(1961)는 *Petunia*에서 不和合 花粉管은 花柱안에서 異常肥大, callose 栓을 만들고 和合, 不和合間에 amylase의 活性, 酸性 phosphatase, 糖代謝 등에 차이가 있다고 했다.

花粉에는 內膜과 外膜이 있고 여기에는 각각 內膜蛋白質, 外膜蛋白質이 축적되어 있다. 그런데 이 內, 外膜의 蛋白質은 각각 그 起源이 다르다. 즉 外膜蛋白質은 葯 2n 性 조직인 tapetum에서 由來 되었기 때문에 造胞體性이고 內膜蛋白質은 n 性的 花粉(실은 小孢子)의 細胞質에서 起源되었기 때문에 配偶體性이다. 和合, 不和合反應이 柱頭에서 일어날때는 花粉外膜蛋白質이 관여하고 花柱안에서 花粉管 伸長이 抑制될때는 花粉內膜蛋白質이 관여한다고 보고 있는데 더 확실한 것은 分子 level의 自家不和合성을 적은 다음의 篇을 참고하기를 바란다.

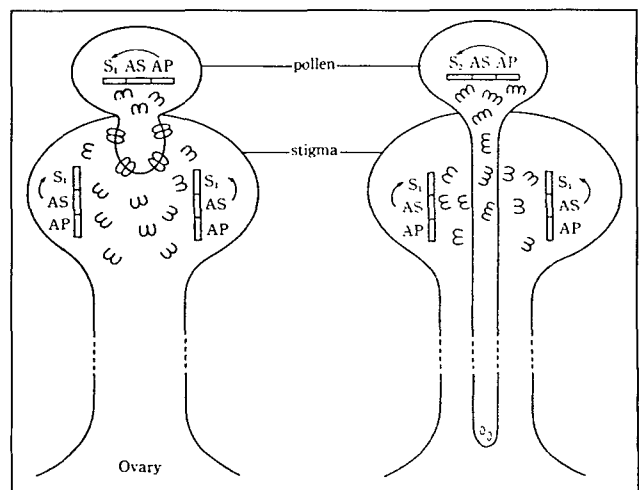


Figure 11. Model explaining the function of S-allele (Nettancourt).

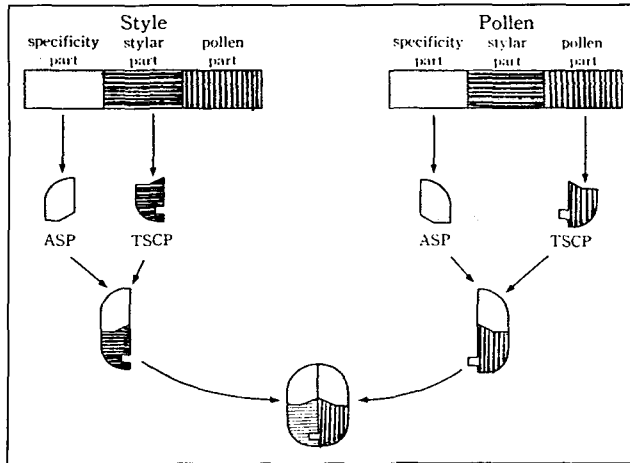


Figure 12. Hypothesis on the S-gene products of pollen and style(Pandey).

이제 위에서 언급한 것중 일부에 대해 좀더 구체적인 설명을 해 보기로 한다.

自家不和合 機構에 대한 Pandey의 모델

自家不和合性에서 自家 花粉이 同種의 S allele에 의해 억제되는 기구를 설명하는 모델이 있다(Figure 11). S locus는 3 部로 나누어 있는데 S와 이것을 control하는 AP와 AS가 있다. 花粉에서는 AP가 活性化 되어 S가 polypeptide를 만들게 하고 花柱에서는 AS가 活性化되어 S가 polypeptide를 만든다. 그럼 좌측의 것은 화분의 AP의 작동으로 S1이 polypeptide를 만드는데 花柱내에서도 같은 徑路를 거쳐 화분에서와 똑같은 polypeptide가 만들어진다. 화분과 화주내에서 각각 동일한 단백질이 생기는 바람에 이것이 花粉管 표면에서 dimer를 형성하고, 이것이 repressor로 작용해서 花粉管 伸長이 억제된다. 그럼 우측의 것은 화주에는 S1, 화분에는 S2가 되어 화분관 내와 화주 내에 각각 다른 polypeptide가 合成되기 때문에 dimer를 형성하지 않아 화분관은 억제를 받지 않고 신장 할 수 있다.

이 모델에서는 화주에 생긴 polypeptide 自體끼리, 또는 화분에 생긴 단백질끼리 dimer를 결성해서 repressor를 만들 수도 있는데 그런 repressor가 생기지 않는다는 것을 설명할 수가 없게 되어 있다. Lewis(1960)가 이 model을 변형시킨 것이 Figure 12이다. 여기서는 화주나 화분에서 모두 동일한 S allele에 특이한 단백질을 합성하지만 이 단백질은 각각 고유의 組織에 特異성이 있는 단백질과 결합해 있다. 그리고 이 組織의 단백질은 화분·화주간에 相補的 關係에 있어서 화분과 화주의 것 사이에는 결합이 되어 repressor를 만들지만 同種의 것 사이에는 결합이 안 되게 되어 있다.

S-allele, S-遺傳子에 의한 蛋白質 관계는 이 정도로 하고 여기에 대한 分子 level의 知識은 後記의 第2篇을 參考하길

바란다.

F1 品種 育成에 自家不和合性을 利用하는데 있어서의 問題

F1 雜種世代를 직접 品種化 할 때에 種子의 genotype은 유전적으로 극도로 heterozygous해야 하고 品種 自體로는 均一해야 한다. 自家不和合 現象을 이용해서 F1 品種을 育成하려면 兩親 品種은 모두 homozygous 해야 하고 또 完全 自家不和合性的 自殖系이어야 한다. 그런데 이런 自殖系는 自殖 種子가 안 생겨 F1의 均一性 유지에는 문제가 없겠지만 自殖 種子가 안 생겨 兩親의 次代維持가 곤란하게 된다. 즉 自殖系가 완벽한 自家不和合性이어서도 곤란하고 일부 自殖能力을 가져도 곤란하다는 딱한 사정이 있다.

自家不和合性이라는 것은 genotype이 다른 異個體의 花粉에 의해 受精이 되어 次代에 變異의 幅을 擴大하려는 特性인데 植物의 이런 特性은 본래 絕對的인 것은 아니다. 人間은 완벽한 自殖系를 만들어 品種 育成에 이용하고 있지만 天然의 自家不和合性에는 融通性(flexibility)이 있어 他殖을 選好하지만 때에 따라서는 自殖을 할 수 있는 能力을 保有하고 있는 것이다. S allele의 特性, 遺傳的 background, 個體의 age, 活力 여하에 따라 自家受精 能力이 달라지고 환경여하에 따라 不和合이 和合으로 변하는 수가 있다.

完全 homozygous 한 自家不和合性 自殖系를 만들면 自殖能力을 상실하지만 育種分野에서는 이런 系統에서 自殖 種子를 얻는 여러 가지 방법을 고안해 내서 이용하고 있는데, 이제 그 예를 들어 보기로 한다. ① 異個體의 花粉의 授粉을 차단하는 방법, ② 뇌수분·遲延授粉을 시키는 길 ③ 高低溫度 등 溫度의 변화 및 關係濕度의 조절 ④ 花柱의 放射線照射 ⑤ 突然變異의 誘起 ⑥ 花粉·雌藥 등에 hormone 處理 ⑦ CO₂濃度의 增加 ⑧ recognition (mentor) pollen 또는 pollen mixture의 사용, ⑨ pollen coat 物質 또는 有機溶劑(hexane 등)등으로 柱頭處理 ⑩ 柱頭切除, 電氣 충격 등 각종 物理機械的인 方法 ⑪ 子房內 自家授粉(intra-ovarian pollination), 그리고 ⑫ 培養 胚珠·胎座 등에 授粉시키는 方法 등이 있다.

이상 자가불화합현상에 대한 古典的 知識을 적어 보았는데 古典的 方法으로는 이 以上에 관한 것은 알 길이 없다. 자가불화합성을 한 가지 요인에 의해 나타나는 단순한 현상으로 알고 one-step reaction이라고 취급해 왔는데 오늘날에는 한두 遺傳子가 관여하는 단순한 기구가 아니라 여러 다른 遺傳子들이 관여하는 多段階의 重複된 機構(superimposed mechanism)로 보고 있다. 자가불화합성이라고 한마디로 이야기하나 柱頭に 묻은 화분의 반응은 실로 다양하다. 화분의 附着, hydration, 發芽, 花粉管의 柱頭로의 침입, 花粉管의 花柱內에서의 신장 등이 授粉된 화분마다

다르고 주두에 묻은 화분중에서 최종적으로 胚囊에 들어가는 것은 극히 制限되어 있고, 주두에서 子房까지의 각 단계에서 화분관의 수가 줄어든다. 화분관 내에서 단백질 합성의 억제이니 하는 식의 단순한 기구로서는 이런 多段階 複合現象을 설명할 수가 없다. 요즘 配偶體性이건 造胞體性이건 自家不和合性を 遺傳적으로 설명하는 데 있어 다수의 유전자를 가정하고 있는데 이런 점도 자가불화합현상이 多段階 要因에 의해 支配된다는 것과 일치가 된다.

自家不和合性, 分子 레벨에서의 解析

他家 授粉·受精하는 식물에는 自家不和合성을 가지고 있는 경우가 대단히 많고 조사되어 있는 것만도 顯花植物 半以上の 科에 이런 현상이 있다. 自家不和合性 중에서도 配偶體性이 造胞體性의 것에 비해 훨씬 더 많이 발견되는 데 後者は 前者의 由來型이라고 보고 있다. 두 型 모두 單一座의 S系 複對立 核遺傳子의 支配를 받는 경우가 많지만 遺傳機構가 單純하지 않고 複雜한 樣式의 것도 적지 않다.

第一篇에서 설명한 바와 같이 配偶體性에서는 花粉의 genotype 如何에 의해 和合, 不和合이 결정되고, 對立遺傳子는 co-dominance 관계에 있지만 造胞體性의 것에서는 화분을 만들어낸 조포체의 genotype 여하에 의해 和合, 不和合이 결정되고 대립유전자 간에는 co-dominance 또는 優劣關係에 있는 수가 많다.

配偶體性이건 造胞體性이건 自家不和合性에서 가장 큰 관심사는 어떤 生理·生化學的 機構에 의해 自家花粉은 受精이 抑制되고 他家花粉과 만이 和合이 되어 他殖種子만을 만들어 내는가이다. 화분이 柱頭에 묻으면 암술이 화분을 인식하고 이것을 迎入하느냐 拒否하느냐를 결정한다. 조포체형인 경우는 불화합인 자가화분을 주두에서 거부하고 배우체형에서는 자기의 花粉管은 花柱內를 伸長해 내려가다가 도중에 정지당한다.

花粉蛋白質과 柱頭(또는 花柱) 蛋白質間에 어떻게 認識을 하고 迎入 또는 拒否가 이루어지는지, 화분을 억제하는 물질이 무엇이고 抑制機構는 어떤지 등에 대한 古典的 知識은 그 概要를 第一篇에 적었다.

화분, 암술이 모두 완전하고 自家授粉의 기회도 많은데, 자기의 화분은 거부하고 他家花粉만을 받아들여 他殖種子만을 만들어 낸다는 自家不和合現象은 실로 기가 막힌 生理機構이다. 그런데 植物界에는 他殖을 해서 후대에 다양한 變異集團을 만들려는 形態的, 生態的 機構, 生理·生化學的 機構가 다양하고 허다하다. 자가불화합성도 그 수많은 他殖 選好機構 중의 하나이기 때문에 生物學者들에게는 별로 관심의 대상이 되지 못했다. 그러나 育種分野에서는 그 遺傳 樣式을 밝혀내서 F1 品種育成에 실지 응용을 하다보니 왜 불화합이 되는지 그 생리기구까지 관심을 갖게 되었다.

그러나 育種學者들의 능력에는 한계가 있어 오랜 노력에도 불구하고 밝혀낸 것이 별로 없고 推定에 근거한 假說을 提唱하는 정도였다.

最近 20餘年間 遺傳工學 技術의 발달과 分子生物學的 知識의 축적으로 자가불화합성이라는 정교한 他殖現象의 veil 이 生化學的으로 또는 分子遺傳學的으로 하나씩 벗겨지기 시작했다. 本篇에서는 최근 알려진 분자 level의 지식들을 年代順으로 적어 보기로 한다.

Glycoprotein

1950年代에서 1960年代에 걸쳐 암술, 화분에 S系 不和合遺傳子 관련의 단백질이 있다는 것이 밝혀졌고, 그 후 造胞體性 *Brassica*의 柱頭에는 S-allele에 특이적인 단백질이 있고 이것은 S유전자와 co-segregation되고 自家不和合에 關與한다는 것을 알았고, 1970年代에 와서는 이런 柱頭 S-단백질이 glycoprotein이라는 것이 알려졌다. 觀賞用 煙草인 *Nicotiana glauca*는 配偶體性의 自家不和合性植物이다. 이 식물에서도 S-allele 關係 단백질이 glycoprotein이고 이 단백질은 花柱 通導組織의 細胞間基質(intercellular matrix)에 있다는 것을 免疫化學的 染色(immunochemical staining)으로 확인했고 또 S-allele과 co-segregation한다는 것도 알았다. 이 단백질은 器內實驗(in vitro bioassay)에서 自家花粉(self pollen)을 인식하고 花粉管의 伸長을 억제한다는 것이 실증되었다.

S遺傳子에 의한 단백질이라는 것을 확인하려면 적어도 이 단백질의 존재와 該當 遺傳子의 유전이 항상 同伴(co-segregation)되어야 하고 器內 bioassay에서 이 단백질은 같은 S유전자를 가진 화분은 억제하고 다른 genotype의 화분과는 화합이 된다는 결과가 나타나야 하는데, 위의 glycoprotein은 그런 조건에 부합되어 S系 遺傳子의 發現 產物임이 틀림없다고 할 수 있다.

Nasrallah 등(1985)은 조포체형인 *Brassica oleracea*의 주두에서 S-座 特異的(S-locus specific) glycoprotein을 encode하는 유전자를 분리해내서 이것을 cloning했다. 이때만 해도 S-allele과 관련된 단백질이 주두에 존재하는지, 그것이 어떤 단백질인지 등이 큰 관심사이던 때라 그 유전자를 cloning했다는 것 자체가 큰 업적이었다. 화분이나 화분관에도 相應되는 단백질이 있는지 등에는 아직 관심을 가질 여유가 없었다.

Anderson 등(1986)은 配偶體性의 *N. glauca* S-genotype과 관련된 glycoprotein을 분리해내고, 이것이 S2-allele의 發現 產物이라는 것을 밝혔고 또 S2의 화주에서 이 단백질을 encode하는 cDNA를 cloning, 鹽基配列을 결정했다. S2-glycoprotein은 S2-allele의 기능과 co-segregation되고 器內에서는 S2화분관을 억제할 뿐만 아니라 S계의 다른 단백질들과 N-terminal sequence의 homology가 크다는 것도 알았다.

N. glauca S2유전자의 발현에 의해 화주에는 32kD

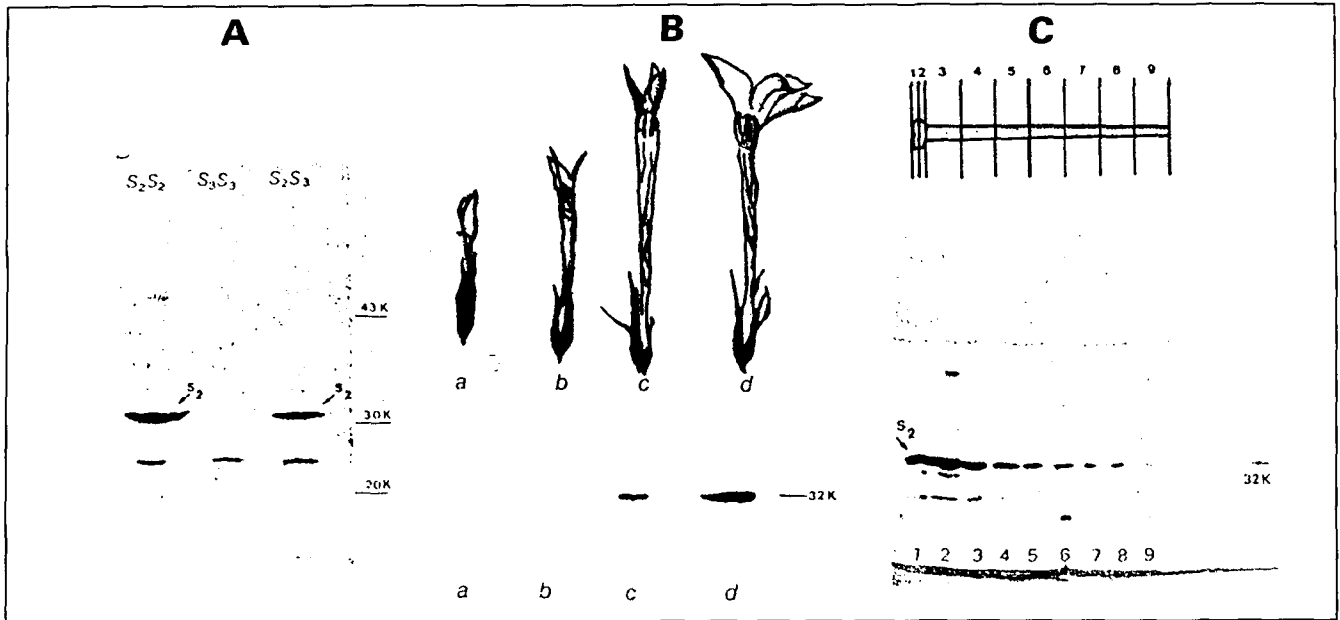


Figure 13. Correlation of expression of the S2 allele of *Nicotiana glauca* with the presence of a 32K glycoprotein in the style extracts. (A) Selective two-dimensional gel electrophoresis of style extracts from mature plants. The 32K band is present in style extracts of all plant which carry a functional S2 allele. (B) 32K glycoprotein band from style extracts of genotype S2S3 at different developmental stages. 32K band is absent at green bud stage when the SI response is absent. (C) The 32K glycoprotein is present at high concentrations in the upper segments including stigma of mature style (Anderson et al., 1986).

glycoprotein이 생기는데 Figure 13A의 band로도 확실하다. 花柱搾汁(style extract)에서 32 kD glycoprotein이 검출되는 개체들은 모두 S2-allele의 화분을 거부하고 32 kD component가 없는 것들은 S2 화분을迎入했다고 한다. 그리고 S2-allele의 32 kD glycoprotein은 花冠期에는 없고 開花期에는 出現하고(Figure 13B), 화분관이 흔히 정지당하는 화주 상부 1/3지점에 특히 많다는 것도 밝혀졌다(Figure 13C). 이 S2의 glycoprotein을 S2-glycoprotein이라고命名하고 있다.

S-allele 관련 glycoprotein의 존재, 花冠期에는 未形成, 開花期에는 出現, 특히 화주 상부에서 검출된다는 등 이와 똑같은 현상은 같은 茄科植物인 *Lycopersicon peruvianum*의 配偶體型 自家不和合性에서도 관찰되었다.

앞에서 cDNA에 대해 언급한 바 있는데, 이 cDNA 방법으로 화주나 주두에서 불화합유전자의 발현을 검출할 수 있고 S계열의 다른 유전자와의 homology 여부를 알아낼 수 있고, 식물이 自家花粉과 他家和合花粉과 어떻게 識別하고 자가화분관 신장을 억제하는지 등 여러 가지 힘든 일을 쉽게 할 수 있다. 즉 古典學問의 여러 未知의 현상을 cDNA로써 분자 level에서 해석을 할 수 있게 되었다.

*N. glauca*에서 S2-allele과 co-segregation하는 32kD glycoprotein을 encode하는 cDNA를 cloning하고 이 cDNA를 이용해서 *N. glauca*의 S3, S6-allele 등에 해당되는 cDNA를 얻은 후 이들의 amino acid 배열을 alignment해 보면 NH2-terminus에 15개의 amino산으로 된 hydrophobic region이 있다는 것을 알 수 있다. Figure 14에 *N. glauca*의 S계열,

Petunia inflata, *Solanum tuberosum* 등의 S계열 glycoprotein의 amino acid 배열 등 10종류의 단백질을 Haring 등(1990)이 공통 amino acid가 일직선상에 오도록 배열(alignment)했는데, 46개의 amino acid가 conserved하고 공통배열을 하고 있다.

茄子科植物의 S2-glycoprotein은 花柱 通導組織細胞에서 合成, 分泌되어 細胞間 基質 粘液(extracellular mucilage)에 존재하지만 子房의 特殊層, 胎座組織의 內表皮(inner epidermis) 등에도 있다. 이것은 S2유전자는 화주에서만 발현되는 것이 아니라 子房의 어떤 부위, 胎座組織에서도 발현된다는 것을 뜻하는데, 화분관이 화주 통도조직을 통과해서 子房과 胎座內表皮를 거쳐 胚珠에 도달한다는 사실과 일치한다.

S1, S2, S3, S6, S7-allele을 가진 개체들을 S2, S3, S6 cDNA를 probe로 써서 genomic DNA를 분석해보면 심하게 hybridize 되는 single band가 나타나는데, 이것은 이들이 單一座, 單一 copy system이라는 것을 말해주는 증거가 된다.

Brassica의 S-locus-specific Glycoprotein (SLSG)

*Brassica*의 自家不和合性연구는 SLSG의 生化學的 特徵을 究明하는 면과 SLSG gene의 分子遺傳學的 分析을 하는 방향의 두 分野가 있다. SLSG 단백질은 암술의 花柱, 子房, 幼苗 등의 부위에서는 검출되지 않고 오로지 柱頭에만 존재한다. 花冠期에 合成이 시작되고, 開花 一日 前에 합성이 최고로 많아지는데 開花 前後해서 자가불화합 현상이 심하

		1	20	40	60	80	100
S ₁	<i>N. alata</i>	NFEYMQLVLTWPTAF	CNVMN--CERT-PTNFTIHGLWPDNVT	STELNYCD--RQKKFLFE--	DDKKQNDLDRWPD	LTLDRODCCKNGQ	FWSEYKKGKGTCC
S ₂	<i>N. alata</i>	AFEYMQLVLTWPIIT	FCRIKH--CERT-PTNFTIHGLWPDNVT	STELNYCD--RSKPYNMT--	DGKKKNDLDERWPD	LTTRKFDSDQAE	FWKDEYKRGTC
S ₃	<i>N. alata</i>	AFEYMQLVLTWPAAF	CHTTPSPCKRI--PNNFTIHGLWPDNVT	STELNYCS--GEDEYKLD--	DDKKKNDLDRWPD	LTIRADCIHQV	FWKHEYNKRGTC
S ₆	<i>N. alata</i>	AFEYMQLVLTWPTAF	CHTTPSPCKRI--PCKNI--PSNFTIHGLWPDNVT	STELNYCS--KEDDYNIIM--	DGPEKNGLYVRWPD	LTIREKADCKQAE	FWKHEYNKRGTC
cons.	<i>N. alata</i>	<u>F E Y M Q L V L T W P A F C</u>	<u>C N V M N</u>	<u>C E R T P T N F T I H G L W P D N V T S T E L N Y C D</u>	<u>R Q K K F L F E</u>	<u>D D K K Q N D L D R W P D L T L D R O D C C K N G Q F W S E Y K K G K G T C C L P S Y N Q E Q Y</u>	
S ₁₁	<i>N. alata</i>	DFEYLQVLVTPASF	FCY--AMHCERIA	PNNFTIHGLWPDNVT	KRLHNC--PKPTYSYFT--	GKMLNDLDRKHW	MLKFEQDYGRTE
S ₂	<i>N. alata</i>	DFDYMLQVLVTPASF	FCY--PKNFCSRIA	PKNFTIHGLWPDNVT	KRGLQFCT--SE--KYVNF	AQDPSILDDLDH	HWMELKXTRDFGLE
S ₁	<i>P. inflata</i>	NFEYLQVLVTPASF	CFRPNKICKRF--AKNFTIHGLWPEIT	GFRLEFCT--GDPKYETFR--	DNNIVDYLRH	HWQMKFDENY	AKYHQPLVSEYKRGH
S ₂	<i>P. inflata</i>	NFDYQLVLTWPA	SFCY--PKNFCKRK--SNNFTIHGLWPNKH	FRLEFCT--GD--KYSRFK--	EDNINVL	RHWIQMR	FDKYSTKQPLWEH
S ₃	<i>P. inflata</i>	NFDYQLVLTWPA	SFCY--PKNFCKRK--SNNFTIHGLWPEK	HFLEFCT--GD--KFSVSLK	DRIVN	DLRHWQMK	FDKFAKIQPLWTHEY
cons.	<i>P. inflata</i>	<u>N F E Y L Q V L V T W P A S F C F R P N K I C K R F</u>	<u>A K N F T I H G L W P E I T G F R L E F C T</u>	<u>G D P K Y E T F R</u>	<u>D N N I V D Y L R H W Q M K F D E N Y A K Y H Q P L V S E Y K R G H M C C S K I Y N Q K A Y</u>		
S ₁	<i>S. tuberosum</i>	DFELLELVSTWPA	TATFCY--AYGCSKR	PIPNFTIHGLWPDNVT	VNFNCNA	HEDEYIPIT--DHKILTE	LDRKWPQRLYDYL
cons. overall		<u>F d e l l e l v s t w p a t a f c y</u>	<u>a y g c s k r p i p n n f t i h g l w p d n v t v n f n c n a h e d e y i p i t</u>	<u>d h k i l t e l d r k w p q r l y d y l g i r k y q l w k n e f i k h g s c s i n r y k o p a y</u>			
		120	140	160	180	200	
S ₁	<i>N. alata</i>	FDLAMALKDKFDLL	SKFRNHGIIP	TKSYTQKYNNT	VKAIT--KGFNLT	CGN--K--QME	LQEI
S ₂	<i>N. alata</i>	FDLAMTLRDKFDLL	SLRNHGIS	RGFSYTQKYNNT	IKAIT--GGFNLT	CGS--R--LRE	LKEI
S ₃	<i>N. alata</i>	FDLAMALKDKFDLL	SLRNHGIIP	PGNSYTVQK	INNTIKAIT--QGYFN	LSC--K--RQ	MELLE
S ₆	<i>N. alata</i>	FRLAMALKDKFDLL	SLKNHGIIR	GKYTVQKIN	NTIKAIT--KGYFN	LSC--K--GQ	ELWE
cons.	<i>N. alata</i>	<u>F L A M A L K D K F D L L S K F R N H G I I P T K S Y T Q K Y N N T V K A I T</u>	<u>K G F N L T C G N</u>	<u>K Q M E L Q E I G I C F D Q R K V N V I D C P R P R T C K A</u>	<u>T R N G I T F P</u>		
S ₁₁	<i>N. alata</i>	FGLALRLKDKFDLL	LRTHGIT	PGTKHTFG	DIKAIKT	VTVNQ	VDPLK
S ₂	<i>N. alata</i>	FLLAHRLKDKFDLL	LRTHGIT	PGTKHTFG	DIKAIKT	VTVNQ	VDPLK
S ₁	<i>P. inflata</i>	FLLATRLKEKFDLL	LRTHGIT	PGTKHTFG	DIKAIKT	VTVNQ	VDPLK
S ₂	<i>P. inflata</i>	FLLAIRLKDLDLL	LRTHGIT	PGTKHTFG	DIKAIKT	VTVNQ	VDPLK
S ₃	<i>P. inflata</i>	FLLAHRLKDKFDLL	LRTHGIT	PGTKHTFG	DIKAIKT	VTVNQ	VDPLK
cons.	<i>P. inflata</i>	<u>F L L A I R L K D K F D L L T L R T H G I T P G T K H T F G E I</u>	<u>O K A I K T V T N N K D P D L K C V E H I G V K E L K E V G I</u>	<u>C F T P A A D S F H D C R H S M T C D E T S T G T L F R R</u>			
S ₁	<i>S. tuberosum</i>	FDLAMKDKFDLL	GLTRNHG	INPGSTYEL	DDIERAIM	TVSIEV--PSLKCI	QKPLGN
cons. overall		<u>F L A I R L K D K F D L L G L T R N H G I N P G S T Y E L D D I E R A I M T V S I E V</u>	<u>P S L K C I Q K P L G N V E L N E I G I C L D P E A R Y M V P C P R T G S C H N M G</u>	<u>H K I K F R</u>			

Figure 14. Alignment of deduced amino acid sequences of S-glycoproteins from three Solanaceous plants. Sequences were aligned with the program CLUSTAL. Potential N-glycosylation sites are underlined. A consensus sequence for the four *N. alata* sequences S₁, S₂, S₃, and S₆ is shown beneath the S₆ *N. alata* sequence. The perfectly conserved amino acids are shown by their single letter codes; similar residues within the groups PAGST, EDNQ, RKH, MILV, and FWY are shown in lowercase as a, d, h, i, and f, respectively. A consensus sequence for the three *Petunia inflata* S-glycoproteins is shown in the same way. An overall consensus sequence for all the S-glycoproteins shown is given on the bottom line. Asterisks indicate residues that are also conserved in the fungal *Aspergillus* RNase T2 and *Rhizopus* RNase Rh (Harling et al., 1990).

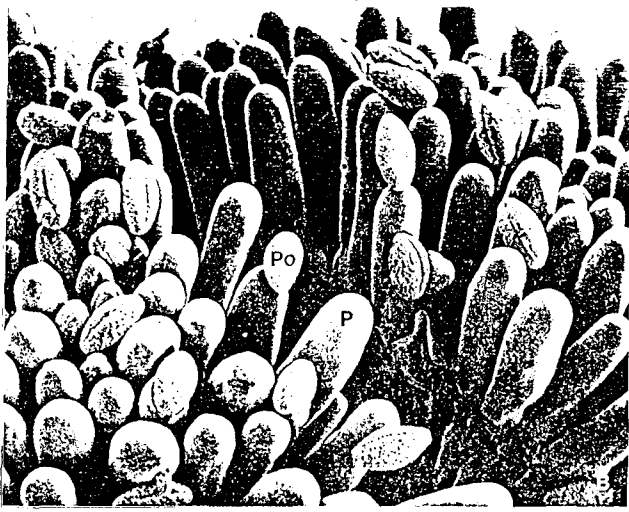


Figure 15. A scanning electron micrograph of a pollinated stigma in Crucifer showing the papillar cells (P) and pollen grains (Po) (Nasrallah and Nasrallah, 1993).

의 柱頭組織은 花柱通導組織에 연결되어 있다. 화분이 수분 되면 이 긴 乳頭細胞가 그 화분을 인식, 받아들인다거나 거부하느냐를 결정하는데, 그 역할을 하는 것이 SLSG라는 glycoprotein이다. ³H로 標識된 cDNA나 ³⁵S로 label된 RNA를 probe로 써서 조사해 보면 S유전자 발현 산물인 이 glycoprotein은 주두조직, 화주, 자방 등에서는 검출되지 않고 柱頭表面의 乳頭突起細胞에만 존재한다. 이런 사실은 이 乳頭細胞들이 화분의 迎入, 拒否를 결정하는 receptive cell의 역할을 한다는 것을 말해 준다. SLSG를 써서 免疫學的 조사를 해 보면 SLSG는 花피에는 없고 開花期에는 乳頭突起細胞의 細胞膜部位(Figure 7)에 많이 축적되어 있다. 그림의 세포막내부의 點들은 glycoprotein이 축적된 것을 나타낸 것이다. 他家의 和合花粉은 膜의 이 SLSG를 뚫고 管伸長을 하지만 自家花粉은 이 단백질 때문에 발아가 되지않던가 설사 발아가 되어도 管伸長을 못한다. 불화합의 자가화분이 주두에 와 묻으면 화분이 발아도 못하는 경우와 화분관이 유두세포막 내로 침투 후에 신장이 정지되는 경우가 있는데, 前者의 경우는 SLSG가 유두세포 표면으로 분비되었기 때문이고 後者の 경우는 SLSG가 세포막 내에 축적되어 있는 상태이기 때문이다. 이런 사실도 SLSG가 화분을 인식, 거부 여부를 결정하는데 관여한다는 증거가 된다.

cDNA의 nucleotide배열로서 SLSG의 구조를 추정한 것을 보면 一次構造의 N-terminus에 31개의 amino酸으로 된

게 나타난다는 사실과 일치한다. 이 glycoprotein을 encode하는 DNA배열을 분리해 내기 위해 개화 一日前 주두의 mRNA에서 cDNA library를 만들어 이용한다. Brassica의 암술 주두에는 약 3,000개의 乳頭突起細胞(papillar cell)가 있는데(Figure 15) 이 유두돌기 바로 밑

hydrophobic signal peptide가 있고, glycosilation이 된 후의 성숙 단백질의 구조는 약 450개의 amino酸으로 되어 있다. *B. oleracea*의 서로 다른 S-allele들의 SLSG사이에는 유사성이 크지만 N-glycosilation site에서의 amino酸 배열에 큰 차이가 있다. carboxyl-terminal 領域에는 cysteine이 많고 S-allele간에 차이가 적고 conserved하다. 이제 *B. oleracea*를 재료로 해서 조사된 예를 더 들어 보기로 한다.

B. oleracea 柱頭 抽出物에서 S₆, S₁₃, S₁₄ allele에 相應하는 SLSG를 알아내고 이 단백질들을 encode하는 cDNA의 염기 배열을 결정했다. S₆ SLSG는 436 amino酸의 polypeptide로 NH₂-terminus에 hydrophobic signal peptide를 가지고 있다. *oleracea*의 4개의 S-allele에 대한 cDNA들은 90%의 homology가 있고 그 배열의 구성은 NH₂-terminal 영역, variable 영역, 그리고 11 cysteine residue를 가진 conserved COOH-terminal 영역으로 되어 있다. *Brassica*屬 식물들의 S-glycoprotein의 amino酸 배열들은 80% 이상 homologous한데, 이는 *Solanaceae*의 것보다는 높은 숫자이다. *B. oleracea*에서도 다른 조포체성 자가불화합식물에서와 마찬가지로 SLSG 단백질은 유두돌기세포의 세포막 안에 축적되어 있다.

自家不和合遺傳子의 時空的 發現

自家不和合植物에서 和合, 不和合을 결정하는 것은 蛋白質이다. 암술에는 S系の 단백질이 만들어지고 화분에도 똑같은 S계의 단백질이 생긴다. 주두에 화분이 와서 붙으면 水和作用으로 화분 단백질이 녹아 내려, 암술 단백질과 화분 단백질과 사이에 상호작용이 일어난다. 즉 암술이 화분을 인식, 자기 화분이면 거부하고 다른 화분이면 받아들인다. *Brassica*에서는 不和合 授粉이 되면 화분이 주두에 접촉해서 몇분 안되어 불화합 반응이 나타나는데 그 반응이라는 것이 花粉發芽가 안된다는 현상이다. 설사 화분이 받아들인다 해도 화분관이 유두세포 세포막의 pectocellulosic layer에서 伸長抑制를 당한다.

N. alata 같은 배우체성 불화합식물에서는 藥 S-유전자의 발현이 감수분열 후 小胞子에서 花粉分化에 이르는 사이에 일어나기 때문에 화분 S유전자가 만드는 단백질 여하에 의해 화합, 불화합이 결정된다. 이것을 古典學에서는 화분의 genotype 여하가 화합, 불화합을 결정한다고 했다. *Brassica* 같은 조포체형에서는 암술 S유전자와 동일한 유전자의 발현이 화분에서 일어나는 것이 아니라 2n성의 조포체 조직에서 생긴다. 그러므로 화분의 기능 즉, phenotype은 화분의 genotype이 결정하는 것이 아니라 화분을 만들어 낸 조포체의 genotype이 결정한다.

배우체형에서는 S유전자가 감수분열 후에 발현되지만 조포체형 식물에서는 S유전자의 발현이 小胞子母細胞의 감수분열 전에 일어나기 때문에 생겨난 화분의 기능은 조포체 유전자 조성의 영향을 받을 것이라고 古典學問에서는 굳게

믿고 있었다. 배우체형 화분에서는 화분 자체의 유전자 발현에 의해 단백질이 만들어지니 화분의 genotype여하가 화합, 불화합을 결정하지만 조포체형에서는 감수분열 전에 유전자가 발현됨으로 화분의 단백질은 조포체 genotype에 의한 것이다. 화분 자체의 유전자는 발현이 안되기 때문에 화분의 genotype은 화합, 불화합에 아무 영향이 없다. 이것이 고전학문의 理論이었는데 실로 그럴 듯하다. 그런데 기왕에도 조포체형에서는 S유전자가 減數分裂 前 또는 花粉分化期에 발현된다는 보고들이 있었다. 花粉期에 유전자가 발현된다고 하면 화분 단백질이 화분 genotype에 의해 만들어진다는 뜻이 되니 조포체형은 조포체 genotype의 영향을 받는다는 설명과 모순이 된다.

조포체형에서는 감수분열 전 小胞子母細胞에서 유전자 발현이 된다는 것은 어디까지나 추정이지 확증은 없다. 그런데 오늘날의 DNA 操作技術로 조사 해 보면 *Brassica* 藥의 S유전자는 감수분열이 끝날 무렵 藥壁 tapetum조직에서 발현된다는 것이 확실하다. 주두의 S-轉寫體에 相應한 유전자와 똑같은 homologous gene이 藥에서는 藥壁組織에서 발현된다는 것을 藥의 polyA + RNA의 Northern blot에서 확인할 수 있었다. 그리고 藥壁組織 중에서도 tapetum조직에서 발현된다는 것을 reporter gene인 GUS gene을 사용해서 알아냈다.

*Brassica*의 SLSG유전자의 promoter와 GUS gene의 coding 領域을 연결해서 만든 chimaeric gene을 역시 十字花科인 *Arabidopsis thaliana*에 導入, transgenic plant를 만들어 보면 GUS gene은 주두 유두돌기세포와 藥의 tapetum cell에서만 발현된다(Figure 16B). 앞의 고전학적 자가불화합성 篇에서 설명한 바와 같이 화분의 內膜蛋白質은 n性인 소포자의 세포질에서 유래되었기 때문에 배우체성 단백질이지만 外膜蛋白質은 2n性의 tapetum조직이 붕괴되면서 그 단백질이 화분 外膜에 堆積되었기 때문에 외막단백질은 조포체성이

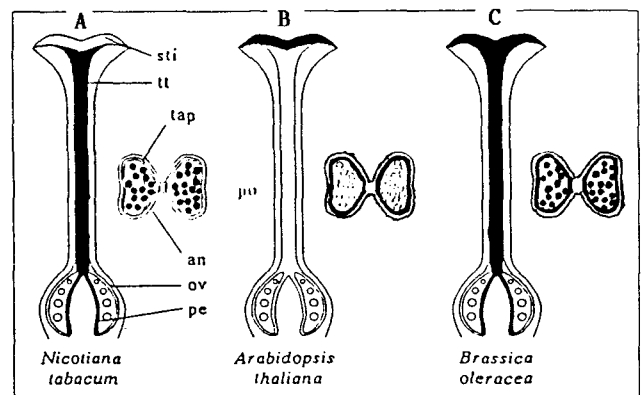


Figure 16. Expression pattern of SLG promoter-GUS fusions in different plant species. β -glucuronidase expression is indicated by black shading. sti, stigma; tt, transmitting tissue; ov, ovary; pe, placental epidermis; tap, tapetum; po, pollen; an, anther (Tompson and Kirch, 1992).

다. 또한 配偶體性自家不和合에서는 화분 내막단백질이 관여하고 *Brassica*와 같은 造胞體性 不和合 機構에는 화분 외막의 조포체성 단백질이 관여한다고 했다. 오늘의 유전자 조작 기술에 의해 *Brassica* 화분의 기능 즉, phenotype은 화분을 만든 조포체의 유전자의 발현에 의해, 다시 말하면 2n 性 tapetum조직에서의 유전자 발현에 의해 결정된다는 것을 알았다. 조포체형 *Brassica*의 화분이 자기 주두에서 발아도 못해보고 거부 당하는데 그것이 유두돌기세포의 세포막에 축적된 단백질인 SLSG와 화분 세포질의 단백질과의 불화합 반응때문이 아니고 화분 外膜에 부착된 tapetum 유래의 단백질과 SLSG와의 불화합 때문이다.

자가불화합 현상은 암술 柱頭(또는 花柱) 단백질과 화분 단백질과의 상호작용에 의해 생기는 것이다. 배우체형에서는 화분 genotype에 의한 자체의 단백질이 관여하지만 조포체형에서는 화분 外膜에 부착된 tapetum 유래의 단백질이 화합, 불화합에 관여한다.

조포체형 암술에서는 S유전자가 주두 유두돌기에서 발현되기 때문에 유두세포의 glycoprotein과 화분 외막 단백질과 사이에 인식; 거부 반응이 생겨 불화합현상은 주두 표면에서 일어난다. 여기에 반해 배우체형에서는 암술 S유전자의 발현이 화주 상부 1/3의 부위에서 일어나기 때문에 암술 glycoprotein과 화분 내막 단백질 사이의 거부반응이 그 지점에서 일어난다. 화주 상부 1/3지점에는 glycoprotein이 많다는 것이 여러 배우체형에서 알려져 있다. 배우체형 화분도 外膜에는 tapetum유래의 조포체성 단백질이 부착해 있었지만 주두 표면에 이 외막 단백질과 반응할 glycoprotein이 없어 거부당하지 않고 불화합 화분일지라도 정상적으로 화분관 신장이 된다. 화주 상부까지 내려가서 glycoprotein을 만나 비로소 불화합반응을 나타낸다.

조포체형이건 배우체형이건 암술의 단백질에 대한 연구는 많이 이루어졌고 *Brassica*의 주두나 *Nicotiana alata*의 화주 상부에는 S유전자의 산물인 S-glycoprotein이 많다는 것이 알려져 있다. 암술 glycoprotein에 비해 화분 S-glycoprotein에 대해서는 아는 것이 별로 없는데 그것은 S유전자의 단백질이 검출되지 않기 때문이다. 조포체형 화분에서는 S유전자가 발현되지 않아 柱頭 S유전자와 동일한 유전자의 mRNA나 S-glycoprotein이 花粉細胞質內에서 검출되지 않는다는 것이 당연하지만 *N. alata* 화분에서 S유전자의 mRNA나 단백질이 검출 안된다는 것이 이상하다. 그런데 근래에 *Brassica* S유전자의 promoter에 GUS reporter gene을 결합, 이 chimaeric gene을 *N. tabacum*, *B. oleracea*에 도입했더니 花柱뿐 아니라 胎座 表皮, 花粉粒에서도 유전자 발현이 된다는 것이 알려졌다. 이 promoter는 비록 *Brassica*의 것이지만 유전자 발현은 배우체형 양식이다.

自家不和合성에 있어서 配偶體型和 造胞體型間의 差異

조포체형과 배우체형간의 차이점들은 古典篇과 분자 level의 篇에서 각각 단편적으로 언급했지만 종합해서 정리해 놓는 것이 이해하는데 도움이 될 것 같다.

분자 level에서 자가불화합성 연구대상이 된 식물로는 野性 tomato, 야생의 potato, 관상용 담배, *petunia* 등을 포함하는 여러 茄子科植物들과 그 밖에 장미科, 양귀비 같은 *Papaveraceae* 등이 있는데 이들은 모두 배우체형이다. 이들 식물 중에서도 집중적으로 연구된 것이 *N. alata*를 주로 한 茄子科植物이다. 조포체형 자가불화합성 식물로서 집중 연구대상이 된 것은 *oleracea*, *campestris* 등 *Brassica*屬 식물들이다.

위에 列擧한 식물들은 모두 兩室花이고 암술, 수술의 길이가 同高部位에 있는 homomorphic flower이어서 자가수분이 쉽게 되게 되어 있는데도 생리적으로 자가수정이 안된다는 공통점을 가지고 있다. 또한 불화합 관계 유전자는 이 두 類型的 식물에서 예외는 있지만 모두 單一遺傳子座(single locus)의 S系 複對立 遺傳子로 되어 있다. 이와 같은 유사점도 있지만 두 群間에는 여러 가지 뚜렷한 차이가 있다.

암술과 화분과의 반응이 배우체성, 조포체성 등으로 차이가 있다던가, 배우체형에서는 대립유전자가 전부 co-dominance 관계에 있는데, 조포체 system에서는 優劣, co-dominance, 암술에서도 優劣이 있는 등 변형이 많다던가, 배우체형 *Nicotiana*에서는 화분관이 화주 통도조직의 세포와 세포 사이의 基質을 통과하는데 조포체성 식물 *Brassica*에서는 화분관이 乳頭細胞의 세포막내로 침입한다던가, *Nicotiana*같은 배우체형에서는 자가화분관이 화주 내로 침입해 내려가다가 화주 길이의 약 1/3을 지난 후 화분관 신장이 억제되는데 *Brassica*에서는 주두표면에서 억제된다던가 하는데 대한 설명은 여러 곳에서 했다.

이상은 고전적인 지식이지만 분자 level에서도 두 system 사이에는 차이가 현저하다. *Brassica* SLSG 단백질은 *Nicotiana*의 것과 큰 차이가 있다. nucleotide level, amino산 level에서 兩者 sequence간에 유사점이 적다. *Brassica*의 一次構造는 435 amino酸, 成熟 glycoprotein의 molecular weight는 57-64kD인데 *Nicotiana*는 214 amino酸에 molecular weight는 27-32kD이다. *Nicotiana*의 S系 단백질은 ribonuclease의 기능을 가지고 있지만 *Brassica*의 SLSG는 ribonuclease와 homology가 없다. *Brassica*의 SLSG유전자는 十字花科 類縁 식물 간에 sequence homology가 있는데 茄子科의 것은 비교적 unique genome sequence이다. 배우체형 암술 S-glycoprotein의 Mr(relative molecular mass)는 20,000-40,000인데, SLSG는 Mr이 50,000-65,000이다. 조포체형 *Brassica*에서는 開花時 SLSG가 주두 유두돌기세포의 세포막 안에 축적되어 있지만 배우체형에서는 glycoprotein이 화주통도조직의 세포간 기질에 분비되어 있다.

조포체형에서는 화분이 주두에서 억제당하고 배우체형에서는 화분관 신장이 화주 안에서 정지당하는데(Figure 17),

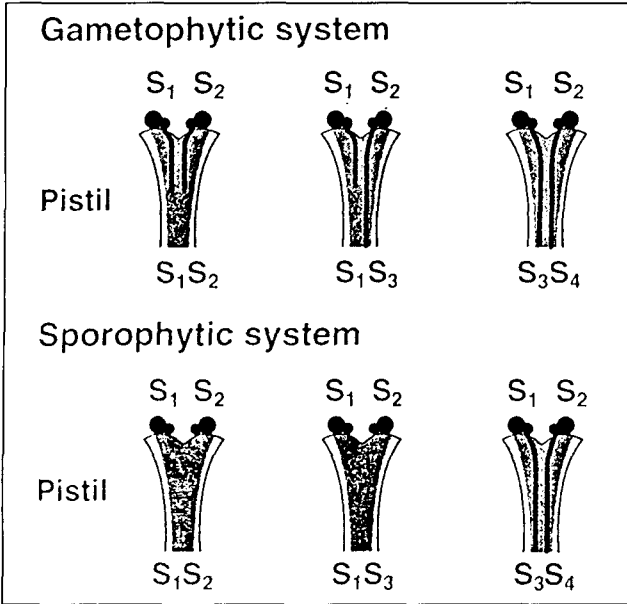


Figure 17. Behavior of pollen in a single-gene gametophytic and sporophytic systems, and the sites of pollen and pollen tube arrests(Newbigin et al., 1993).

이런 차이가 上述한 바와 같은 두 SI system의 암술 S-locus 遺傳子 産物의 배열 본질의 차이, 기능 양식의 차이 때문이라고 생각할 수도 있다.

이와 같이 十字花科와 茄子科 間에 차이가 있는데도 *Brassica* S-gene의 promoter를 GUS gene과 연결해서 茄子科의 *N. tabacum*에 도입하면 화주 통도조직과 화분에서 발현 되는데 그 발현 양상은 배우체 system과 같다. 이것은 비록 유전자 자체에는 兩者間에 유사성이 없더라도 regulatory element에는 homology가 있다는 것을 뜻할지도 모른다.

암술 S-locus 유전자의 發現 産物인 glycoprotein이 조포체성인 *Brassica*에서는 SLSG이고 가자과 식물에서는 S-RNase라는 것과 그 기능도 일부 알려져 있지만 화분 S-locus 유전자의 發現 産物에 대해서는 아직 아는 것이 별로 없다. 그러나 근래 S-locus에 있다고 생각되는 SRK라고 하는 receptor protein kinase 유전자의 발견과 더불어 화분-주두간의 인식의 기구를 어느 정도 추정할 수 있게 되었는데 여가에 대한 것은 별도 後記하기로 한다.

茄子科植物의 S-glycoprotein과 ribonuclease

전기영동법의 등장으로 *Brassica*와 같은 조포체성 자가불화합성 식물에서 뿐 아니라 배우체성인 *Nicotiana*, *Petunia*, *Solanum* 등의 화주 S-유전자 단백질이 1980년대에 들어와서 속속 밝혀졌고 이런 단백질을 encode하는 DNA sequence를 cloning할 수 있게 되었다. 그 결과 茄子科의 이 S-유전자 관련 glycoprotein들은 유사한 성질을 가지고 있다는 것을 알았다. McClure 등(1989)은 *Nicotiana*, *Solanum* 등의 화

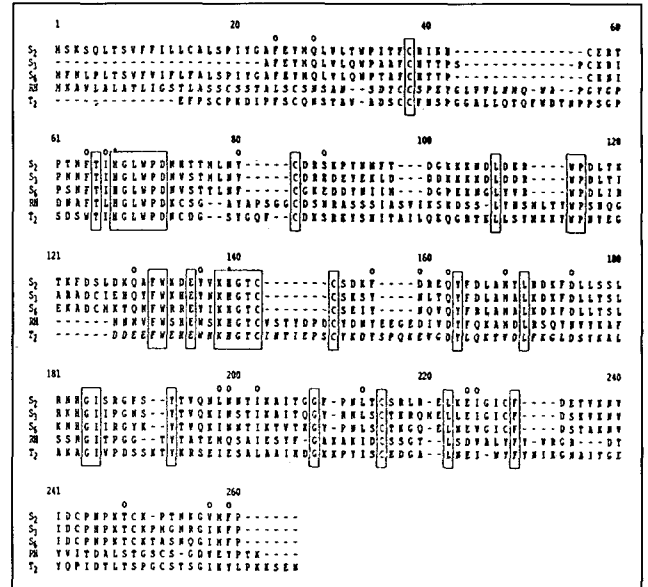


Figure 18. Alignment of the amino acid sequences (single-letter code) of the S-glycoproteins with those of the ribonucleases Rh and T2 were made using the program CLUSTAL. Gaps (-) have been introduced to optimize the alignment. Boxed residues are identical among all five sequences, whereas similar residues (those belonging to the groups Asp, Glu, Asn and Gln (DENQ), Ser and Thr (ST), le, Leu, Met and Val (ILMV), and Phe, Trp and Thr (FWY)) are marked by a circle (○) (McClure et al., 1989).

주에서 S계 복대립 유전자 관련 glycoprotein들을 분리해 내고 이것들이 ribonuclease activity가 있다는 것을 알아 냈다.

Anderson 등에 의하면 *N. alata*의 3개의 복대립유전자들은 각각 glycoprotein을 encode하는데 이 단백질들은 類以 領域이 3곳에 있다. 그리고 흥미있는 것은 이 세곳의 homology region 중 두 곳이 ribonuclease T2, Rh의 것과 흡사하다는 것이다. T2는 *Aspergillus oryzae* 곰팡이의 RNase T2이고 Rh는 *Rhizopus niveus*의 RNase Rh이다. McClure 등(1989)도 *N. alata*의 화주 추출물에서 분리해 낸 S1, S2, S3, S6, S7 대립 인자들에 상응하는 glycoprotein이 역시 ribonuclease라는 것을 보고했다. Figure 18에 S2, S3, S6의 glycoprotein의 amino酸 배열과 Rh, T2 RNase의 amino酸 배열과의 類以點을 비교했다. 茄子科의 S-glycoprotein과 곰팡이 RNase와의 sequence homology는 큰 것이 아니다. S2, S3, S6 세 S-glycoprotein의 122 amino산 중 conserved한 30개가 fungal RNase의 것과 같고 22개는 準類以性이 있다. 그러나 이 conserved region에는 histidine residue, cysteine residue를 둘러싼 부분이 있는데 이런 sequence homology는 이 glycoprotein이 구조상, 기능상으로 fungal RNase와 같다는 것을 암시해 준다.

N. alata 자가불화합체계의 이런 화주 추출물에서 얻은 물질의 ribonuclease specific activity는 자가화합체 *N. tabacum*의 것의 100-1,000배나 크다는 것으로 보아 배우체성 자가불화합성의 생화학적 기구에는 ribonuclease activity

가 큰 역할을 할 것이라는 것을 암시해 준다.

glycoprotein은 RNase기능을 가지고 있는데 *N. alata*의 자가불화합 반응에서 화분관 신장이 억제되는 것은 이 때문이다. 기왕에는 glycoprotein의 기능을 receptor-ligand model로써 설명을 했는데 glycoprotein에 RNase작용이 있다고 하면 cytotoxic enzyme activity라는 새로운 model로써 설명을 해야 할 것 같다. 즉 화분관이 화주에서 분비되는 cytotoxic agent인 RNase를 섭취(uptake)함으로써 신장이 정지되는데, 타가화분의 S-gene의 發現產物은 이 화주의 cytotoxin을 거부 또는 不活性化시킴으로써 화분관 신장에 지장이 없다. 그러나 화주의 S-gene과 동일한 S-gene을 가진 자가화분관은 이 cytotoxin을 불활성화시킬 수 있는 능력이 없어서 신장을 정지당한다.

McClure 등(1990)은 화주조직의 glycoprotein은 실은 ribonuclease(S-RNase)이고 이 S-RNase는 불화합의 자가화분관내의 rRNA를 분해함으로써 화분관 신장을 정지시키지만 화합화분관에는 영향을 끼치지 않는다고 했다. 이 S-RNase는 rRNA만을 분해하지 mRNA나 tRNA에는 작용을 하지 않는다고 한다. rRNA gene 즉 rDNA는 성숙 또는 발아하는 화분에서는 轉寫가 안되어 rRNA가 新生되지 않는다. 화주의 RNase가 화분관 안으로 들어가서 기존의 rRNA를 분해하면 화분관은 신장을 하지 못한다.

Brassica의 SLSG와 *N. alata*의 RNase

Brassica의 SLSG는 개화된 암술 주두 유두돌기세포의 세포막 안에 축적되어 있다. 이 단백질을 encode하는 유전자의 발현 장소가 유두세포이고 불화합 반응이 일어나는 곳이 유두세포의 세포막이고 돌연변이에 의해 생긴 화합계에는 이 SLSG의 유두세포막 축적이 없다는 것 등으로 SLSG는 불화합에 관여하는 단백질이 틀림없다고 斷言할 수 있다.

최근에 SLSG 유전자와 관련있고 花器에서 발현되는 SRK(S-related receptor kinase)gene이 알려졌는데 이 유전자도 자가불화합성에 관여하는 것으로 보고 있다. SRK gene은 S locus에 밀착 link되어 있다. 이 유전자가 encode하는 단백질은 SLSG와 같은 amino-terminal region을 가지고 있고 membrane-spanning domain을 통해서 protein kinase의 carboxyl terminal에 연결되어 있다. 동일한 S locus의 SLSG와 SRK간의 amino terminal은 대단히 흡사해서 공통 receptor ligand와 결합할 수 있게 되어 있다.

和合授粉에서는 화분 Sx에 있는 SRKx 단백질이 주두에 있는 ligand Lx에 의해 활성화되어 화분관 신장이 이루어지겠지만 不和合授粉에서는 주두에 풍부히 존재하는 SLSG가 먼저 Lx와 결합해 버리는 바람에 SRKx가 활성화 되지 않아 화분관 신장이 안된다. 이런 화분과 주두와의 認識, 迎入, 拒否에 대해서는 별도 後記했다.

Brassica의 SLSG gene을 *Agrobacterium*을 통해서 routine한

방법으로 *N. tabacum*같은 가자과식물, 같은 십자화과의 *B. oleracea*, *Arabidopsis thaliana* 등에 도입, 형질전환식물(transgenic plant)을 만들기도 하고 또는 SLG유전자 promoter와 GUS를 결합, chimaeric gene을 만들어 유전자 발현상황을 추적해 보기도 했다. *N. tabacum*은 자가불화합성이 심한 茄子科에 속하는 식물이지만 그 自體는 自家和合性植物이고 *Arabidopsis*는 *B. oleracea*와 더불어 조포체형 자가불화합성이 심한 십자화과에 속하지만 이 식물은 자가화합성이다. 그런데 Figure 16를 보면 같은 SLG promoter이지만 식물에 따라 반응이 각각 다르다.

SLG promoter + GUS reporter construct로 형질전환시킨 *Arabidopsis*를 보면 유전자 발현이 주두 유두돌기와 tapetal 층에 국한해 있는데 이것은 조포체형 자가불화합성식물에서 S유전자가 발현하는 부위와 똑같다. 여기에 반해 *B. oleracea*에서는 reporter gene이 화분, 화주 통도조직, 태좌 표피 등에서 발현되는데 이것은 가자과 배우체형 자가불화합성에서 S유전자가 발현하는 pattern과 똑같다. *N. tabacum*에서는 SLG promoter는 화주 통도조직, 주두, 태좌 표피 등에서 발현된다.

위의 결과를 보면 Brassica의 SLG promoter에는 배우체형, 조포체형 발현을 각각 할 수 있는 염기배열을 가지고 있는데 어느 것이 발현되느냐는 이런 cis-acting sequence에 宿主植物 該當 組織의 어떤 trans-acting factor가 와서 결합되느냐에 달려 있다고 할 수 있다.

古典篇에서 조포체형 자가불화합성은 배우체형에서 유래되었다고 했는데, 위의 성적은 Brassica의 조포체형 promoter는 與件에 따라서는 배우체형 자가불화합성도 발현시킬 수 있는 잠재력을 보유하고 있다는 증거가 되기도 한다.

Brassica屬 식물이 조포체형 자가불화합성 식물의 대표격인 것처럼 배우체형 자가불화합성 식물 중에서 가장 많이 연구된 식물이 *N. alata*이다. 이 식물은 Brassica와는 전혀 달라서 화합, 불화합 화분관이 모두 똑같이 화주 통도조직 내를 신장해 가다가 불화합 화분관은 화주 위로부터 1/3쯤 되는 지점에서 화분관 신장이 멎는다. 花粉管端에 callose가 축적되는 수도 있고 管端의 肥大 또는 破裂이 있는 수도 있다.

S座 관련 단백질은 심한 염기성인데다 glycosylate되어 있고 molecular weight는 24-32kD이다. 이 단백질의 amino산 배열이 곰팡이의 ribonuclease Rh, T₂의 것과 대단히 흡사할 뿐 아니라 RNase기능을 가지고 있어 흔히 S-RNase라고 부르고 있다.

S-RNase polypeptide는 花柱 通導組織細胞에서 분비되어 細胞間 基質(intercellular matrix)에 축적되는데 이 단백질의 농도가 가장 높은 곳이 화주의 상부 1/3지점이다. 이 지점은 불화합화분관이 신장을 정지당하는 곳이기도 하다. 이 단백질은 농도가 낮기는 하지만 태좌 표피에도 있어, 화분

관이 신장해서 수정하는데에는 필요한 것임을 나타내고 또 未熟花柱에는 흔적만 있는데 이런 사실은 未熟花柱期에는 자가화합이 된다는 것과도 일치한다.

화주 안에 생긴 이 S-RNase가 어떻게 화합, 불화합 화분을 식별하는가를 알아보기 위해 McClure 등(1990)은 특정 S genotype 화분의 RNA를 labelling한 후 이것을 화합, 불화합의 암술에 수분시켰더니 불화합 화주에서는 RNA가 분해되는데 和合組合에서는 분해되지 않았다 한다. 또한 S₂ allele에 相應하는 S-RNase는 S₂ 화분관 안으로 攝入되어 S₂ 화분관의 신장을 억제한다는 것을 알았다.

花粉-柱頭(또는 花柱)間의 認識, 拒否機構 推定

조포체형, 배우체형에서 모두 자가불화합에 관여하는 암술 S座 유전자에 의한 glycoprotein에 관한 것은 비교적 많이 연구되었지만 화분에 있는 相應 S 유전자가 만드는 단백질에 대한 것, 이 단백질과 암술 단백질과의 관계 등에 관한 것은 거의 모르고 있는 형편이다. 그런데 근래 Brassica 암술에서 receptor protein kinase와 유사한 단백질을 encode하는 유전자가 알려져, pollen-stigma recognition의 기구를 분자 level에서 추정해 볼 수 있게 되었다. 이 유전자가 만드는 S-receptor protein kinase를 SRK(S-related receptor kinase)라 부르는데 이 단백질을 만드는 유전자는 Brassica의 S-locus에 밀착 link되어 있고 자가 불화합에 관여하는 것으로 알려져 있다.

SRK는 3개의 領域(domain)으로 되어있고 옥수수 뿌리에서 cloning한 receptor kinase와 amino酸 배열이나 구조가 유사하다. receptor protein kinase라는 것은 cell-cell interaction에 관여하는 것이라고 보고 있는데, 가령 식물 분열조직에서는 왕성히 분열하는 세포와 세포사이의 상호작용에 관여한다던가 식물 세포와 미생물과의 관계에 관여한다던가 한다. Brassica 화분과 주두 사이의 상호작용에 있어서 情報傳達 system 즉 이 kinase가 일종의 仲媒役을 하리라고 생각된다. SRK의 receptor domain을 통해서 자가화분을 인식하고, 억제하는 kinase based signalling pathway를 활성화시킨다고 할 수 있다.

Brassica S座의 SLG유전자와 SRK 유전자는 密着 link되어 있고 서로 關聯을 가지고 있는데 S family에 속해 있는 유전자들이다. Figure 19A에는 SLG, SRK 유전자가 최고 200kb의 거리를 두고 서로 聯關되어 있다는 것과 SRK의 앞 領域은 SLG와 유사하다는 것을 나타냈다. SLG유전자는 421개의 amino酸의 peptide를 만드는데 그 중에는 signal peptide가 포함되어 있다. SRK 유전자는 細胞膜과 관련된 단백질을 만드는데 세포 밖의 領域은 SLG의 것과 같고 S 領域은 transmembrane 領域을 통해서 細胞質 內的 protein kinase 領域에 연결되어 있다는 것을 Figure 19B에 나타냈다. 그림 B에서 보면 S₆과 S₂座의 SLG-SRK 유전자들은 構

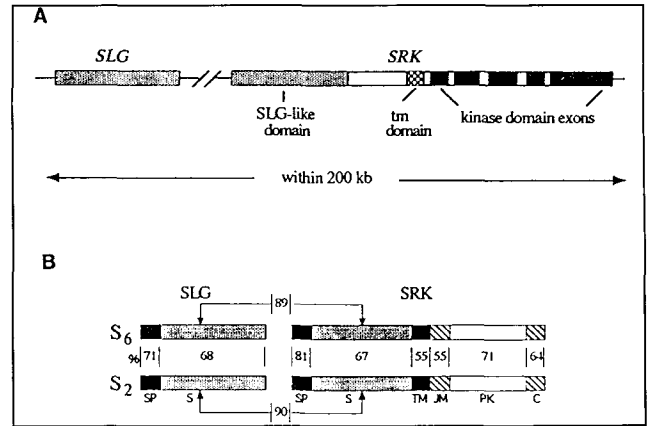


Figure 19. The Brassica S locus and the SLG/SRK gene pair. (A) Physical linkage and structure of the SLG and SRK genes. tm, transmembrane. (B) Sequence relationships between the SLG and SRK genes in two S haplotypes. The numbers refer to percent amino acid sequence identities between the predicted proteins. SP, signal peptide; S, S domain; TM, transmembrane domain; JM, juxtamembrane domain; PK, protein kinase domain; C, carboxy-terminal domain (Stein et al., 1991).

造上 類似性이 많다는 것을 알 수 있다.

화합화분인 경우에는 화분이 가지고 온 SRK 단백질이 ligand와 결합, 활성화 되면서 화분이 발아, 화분관 신장이 되는데 불화합의 경우는 주두에 많이 있는 SLSG와 SRK receptor와의 사이에 결합이 되는 바람에 화분의 발아나 화분관 신장이 안된다. Figure 20은 Tompson and Kirch(1992)이 조포체형, 배우체형 별로 花粉-柱頭 또는 花粉-花柱 간의 불화합 기구를 생각해 본 것을 인용한 것이다.

Figure 20의 (A), (B)는 Brassica의 조포체형 불화합 기구인데 여기에는 S receptor kinase가 불화합에 관여한다. 그림에서 SRK는 화분에서 유래되었고 SLSG와 ligand L은 주두에서 온 것이다. L이 화분의 SRK와 결합, 活性化되면서 화분관 신장이 되어야 하는데 (A)에서는 화분의 SRK가 SLSG와 단독결합 또는 SRK, SLSG, ligand가 복합 결합하는 바람에 화분관 신장이 안되는 경우이고 (B)는 SLSG가 SRK와 결합해서 ligand L의 접근을 막던가 SLSG가 L과 결합됨으로 SRK가 활성화되지 못해 불화합이 되는 model이다. 화분 S-allele간의 優劣性은 SRK와 SLSG의 두 단백질 중 어느 것이 ligand L과 결합되는가에 영향을 미친다.

Figure 20(C)와 (D) model은 배우체형에서 화주내의 RNase가 화분관 안의 rRNA를 분해해서 화분관 신장이 억제된다는 假想圖이다. (C), (D)에서 모두 화분관의 genotype은 Sx이다. (C)에서는 화분 S 유전자에 의한 단백질은 receptor Lx이고 이것은 相應한 화주 S-RNase Sx를 화분관 내로 끌어들여 rRNA를 분해해 버린다. model(D)에서는 화분의 Lx가 화분관 세포질내에 있고 화분관 안으로 들어 온 RNase들을 선택적으로 무력화시킨다는 것이다. 이

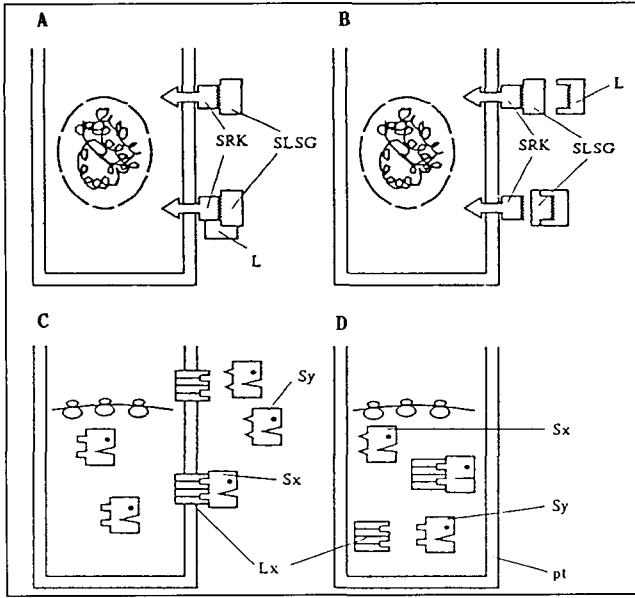


Figure 20. Models for the mechanism of self-incompatibility. The boxed area represents a section across the pollen tube (pt), bounded by the plasma membrane. In the *Brassica* sporophytic system (A and B), an S receptor kinase (SRK) is implicated in the mechanism of SI. The SRK shown is assumed to be derived from the pollen parent, and SLSG and L (a putative ligand) to be stigma-derived. (A) A cellular signal transduction pathway is triggered via SRK and causes pollen rejection (incompatible response). Recognition could involve the allele-specific binding of a pollen-borne SRK either to an SLSG alone or with a putative ligand (L). In (B) another scenario for an incompatible response is presented. Here, the triggering of a signal necessary for the compatible reaction is prevented by the SLSG, which either binds to the SRK and prevents access of the activating ligand L, or binds to and titrates out L. Dominance effects between S alleles in pollen and pistil could be explained as a result of competition between SRKs or SLSGs for limiting ligand. In gametophytic SI (C and D) a cytotoxic effect of the S-RNase (Sx or Sy) on the RNA in pollen is assumed. The pollen tubes in (C) and (D) are both of the genotype Sx. In (C), the pollen S-gene product is proposed to be a homomeric receptor (Lx), which is responsible for the allele-specific uptake of the corresponding S-RNase, Sx, into the pollen tube cytoplasm. In model (D) the pollen S-gene product (Lx) is located in the cytoplasm, where it inhibits all S-RNases except Sx and thus allows an allele-specific SI reaction. The free Sy RNase molecule will be rapidly inactivated by binding to the Lx receptor (Tompson and Kirch, 1992).

model에서는 Lx가 RNase Sy와는 결합, 무력화시키지만 Sx에는 작용을 못해 결국 Sx가 rRNA를 분해, 화분관 신장을 정지시키게 만든다.

花柱內 S系 不和合 遺傳子의 確認

茄科植物 花柱의 S-allele에 상응하는 S-glycoprotein은 실은 RNase이고 S-allele과는 co-segregate한다는 것, 이 단백

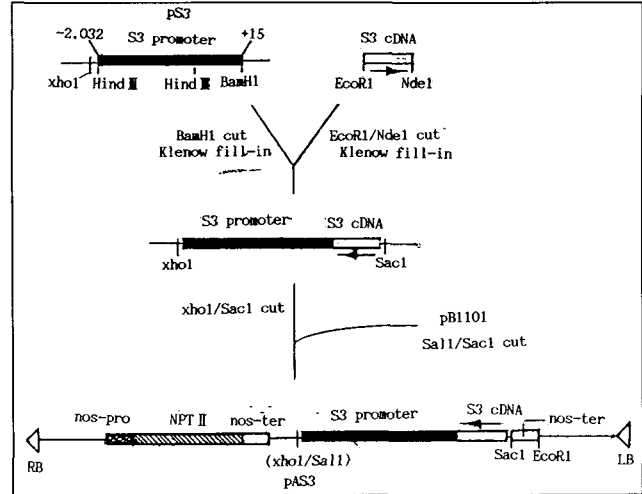


Figure 21. Antisense construct of *P. inflata* plants with antisense S3 gene. The promoter used to express the antisense S3 cDNA was contained in a DNA fragment spanning -2,032 to +15 bp of the S3 gene. Sense S3 cDNA is indicated by an arrow pointing right; antisense S3 cDNA is indicated by an arrow pointing left. The transcriptional termination signal was provided by the nopaline synthase terminator (nos-ter) present on a binary Ti plasmid pBI 101(Clontech). The NPTII gene, which encodes neomycin phosphotransferase and confers kanamycin resistance in transgenic plants, is expressed by the nos gene promoter (nos-pro). RB and LB denote right and left borders of T-DNA (Lee et al., 1994).

질은 자가화분(self pollen)을 인식하고 거부한다는 것 등을 알았는데, 이런 것은 어디까지나 간접적 증거 밖에 안된다. Lee 등(1994)은 *Petunia inflata*의 S2S3 genotype 개체를 재료로 하고 antisense RNA 기술을 써서 S3, S2 단백질이 자가화분을 억제한다는 사실을 밝혀냈는데 이것은 S계 유전자의 정체, 유전자의 發現產物, 유전자의 기능 등에 대한 직접적인 증거를 얻은 셈이 된다.

S2S3 genotype을 가진 개체에 antisense S3 gene을 routine한 방법을 써서 도입했더니 이 transgenic plant의 화주가 S2S3 인데도 S3 화분관 신장을 거절하지 않는다. antisense S3 gene의 轉寫體가 S3 gene의 轉寫體를 無力化시켰기 때문이다.

P. inflata SiS2 genotype 개체에 S3 단백질을 encode하는 유전자를 도입, transgenic plant를 만들면 元來의 이 식물은 SiS2 genotype을 가지고 있고 S3 花粉과는 和合이었는데도 transgenic plant는 S3 花粉을 받아 들이지 않는다. S3 gene이 들어가서 발현되기 때문이다. 두 실험이 모두 흥미있는 것이기에 그 내용을 좀 더 상세히 적어보기로 한다.

자가불화합식물인 *P. inflata*에서 花粉·雌藥 간의 자가불화합에 S protein이 정말 관여하는지를 알아보기 위해 S2S3 genotype 개체에 *Agrobacterium*을 매개로 한 routine한 방법으로 S3 유전자의 promoter에 antisense S3 cDNA를 연결해서 도입, 형질전환을 시켰는데, Figure 21에 antisense gene construct의 模型을 표시했다.

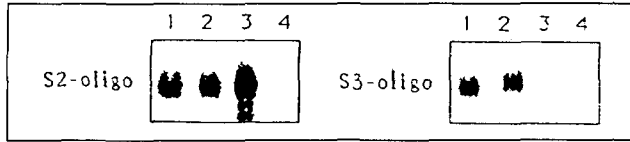


Figure 22. Analysis of the amounts of S2 and S3 RNA in a parental S2S3 plant (lane 1) and three transgenic plants, AS-39 (lane 2), AS-14 (lane 3) and AS-27 (lane 4). They were hybridized with two radiolabelled probes separately: S2-oligo, an oligonucleotide specific for sense S2 RNA; S3-oligo, an oligonucleotide specific for sense S3 RNA (Lee et al., 1994).

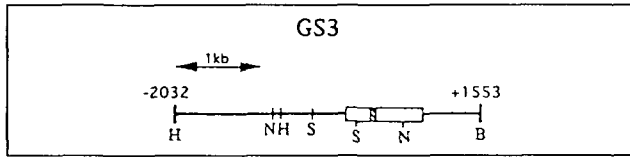


Figure 23. Transformation of *P. inflata* plants with the S3 gene. Schematic representation of the genomic DNA used in transformation experiments. The DNA fragment, GS3, spans -2032 to +1553 bp of the S3 gene. Open boxes denote the exons; the hatched box denotes the intron (Lee et al., 1994).

S2S3 genotype의 母本은 자가불화합이지만 이렇게 형질 전환 시킨 개체들은 자자화합 개체들과 같은 정도로 자식 중 자가 생기고 또 antisense DNA가 삽입된 것이 확인도 되었다. 삽입된 antisense S3 cDNA에 의해 S3 유전자의 기능이 무력화되어 S3 화분이 수정을 할 수 있게 되었다고 볼 수 있다. 암술의 S3가 기능을 상실하는지를 더 확인하기 위해 이 형질전환 식물에 tester식물인 S2S3, S2S2에서 화분을 채취, 수분을 시켜 보았다. 일부 개체들은 S2S2 화분은 거부하지만 S2S3 tester 개체의 화분은 영입하는 것으로 보아 형질 전환식물들은 삽입된 antisense S3 cDNA에 의해 암술 S3 유전자의 전사체가 무력화되는 것이 확실하고 또 삽입 antisense 유전자 때문에 S2 유전자의 기능에는 아무 변화도 생기지 않는다는 것도 나타나고 있다. 그러나 일부 개체에서는 S2S2 개체의 화분, S2S3의 화분을 모두 받아들이는데 이런 개체에서는 antisense DNA에 의해 S2 유전자도 영향을 받았다는 뜻이 된다.

Figure 22에서와 같이 형질전환된 S2S3 개체 중 S2 화분을 거절하고 S3 화분은 받아들이는 것에서는 S2 RNA는 검출되지만 S3 RNA는 없고 S2, S3 화분을 모두 받아들이는 개체에는 S2 RNA, S3 RNA의 합성이 없었다고 한다. S2, S3 유전자가 만드는 단백질의 有無도 같은 경향이였다.

암술에 있는 S3 유전자가 만드는 단백질만으로 S3화분이 거부당하는지 아니면 다른 요인이 관여하는지를 확실히 하기 위해 S3 유전자를 포함한 길이 3.6kb의 DNA 조각을 SiS2의 *P. inflata*에 도입, 형질전환을 시켰다(Figure 23). SiS2 개체는 S3화분에 대해서는 화합 관계에 있는데, 삽입된 S3

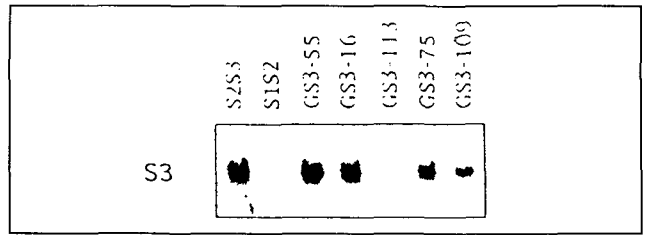


Figure 24. Northern blot for the analysis of the S3 RNA. Each lane of the RNA blot contains 10 µg of total pistil RNA. Of the seven plants analysed, S2S3 and SiS2 are nontransgenic plants and the other five are transgenic plants (Lee et al., 1994).

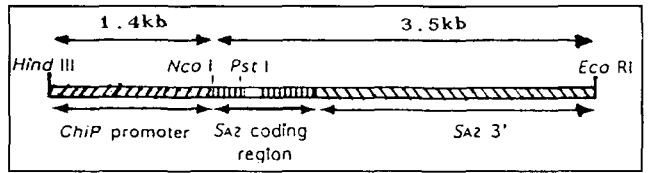


Figure 25. Construction of a chimaeric SA2-RNase gene. The SA2-RNase gene sequences were carried on a 3.5-kb NcoI-EcoRI fragment. The NcoI site contains the ATG translation initiation codon of the SA2 -RNase pre-protein. A small intron interrupts the coding region(unshaded area). The tomato *ChiP* promoter is carried on a 1.4-kb Hind III-NcoI fragment. Fusion of the two gene fragments results in a chimaeric *ChiP*-SA2 RNase gene (Murfett et al., 1994).

유전자 때문에 SiS2 genotype의 개체가 S3화분을 거부 또는 영입하는지 그 반응을 보았다.

다수의 transgenic plant를 만들고 여기에 S2S3 개체의 화분을 수분시켰더니 일부 개체는 S3화분을 완벽하게 거부하였다. 나머지 개체들은 部分和合 또는 完全和合 등 그 정도가 구구했다.

SiS2 개체이기 때문에 물론 自家의 S1, S2 화분과도 불화합이지만 이 S3 화분에 대해 불화합의 개체를 幼穉期에 수분시키면 수정이 된다. S1, S2 화분은 물론 S3 화분에 대해서도 유퇴기에는 화합이 되는 것으로 보아 S1, S2, S3, 유전자들이 모두 개화 2-3일 전에는 발현이 안되는 것 같다. 새로 삽입된 S3 유전자가 암술에서 발현되어 S3 RNA를 만들고 상응하는 단백질을 만든다는 것도 확인되었다(Figure 24).

*N. alata*를 재료로 해서 불화합화분의 인식과 거부를 연구하는데 있어서 화분에서 S 유전자의 발현이 적어서 한계를 느낀다. Murfett 등(1994)은 tomato의 화주에서 주로 발현되는 chitinase gene (*ChiP*)의 promoter에 S-RNase gene의 coding region을 연결, chimaeric gene을 만들어(Figure 25), *N. alata*의 transgenic plant를 作出했다. 이 형질전환식물의 화주와 화분에서는 RNase 유전자의 발현이 왕성해지는데 이로써 화분의 인식과 거부에는 S-RNase만이 관여한다는 것을 알아낼 수 있었다.

인 용 문 헌

- Ai Y, Kron E, Kao T-h (1991) S-alleles are retained and expressed in a self-incompatible cultivar of *Petunia hybrida*. *Mol Gen Genet* **230**: 353-358
- Anderson MA, Cornish EC, Mau S-L, Williams EG, Hoggart R, Atkinson A, Bonig I, Grego B, Simpson R, Roche PJ, Haley JD, Penschow JD, Niall HD, Tregear GW, Coghlan JP, Crawford RJ, Clarke AE (1986) Cloning of cDNA for a stylar glycoprotein associated with expression of self-incompatibility in *Nicotiana glauca*. *Nature* **321**: 38-44
- Anderson MA, McFadden GI, Bernatzky R, Atkinson A, Orpin T, Dedman H, Tregear G, Fernley R, Clarke AE (1989) Sequence variability of three alleles of the self-incompatibility gene of *Nicotiana glauca*. *The Plant Cell* **1**: 483-491
- Broothaerts WJ, Laere Av, Witters R, Preaux G, Decock B, Damme Jv, Vendrig JC (1989) Purification and N-terminal sequencing of style glycoproteins associated with self-incompatibility in *Petunia hybrida*. *Plant Mol Biol* **14**: 93-102
- de Nettancourt D (1977) Incompatibility of Angiosperms. *Monographs on Theoretical and Applied Genetics* 3 (Springer, Berlin)
- Ebert PR, Clarke AE (1990) Transformation and regeneration of the self-incompatible species *Nicotiana glauca* Link & Otto. *Plant Mol Biol* **14**: 815-824
- Gasser CS, Budelier KA, Smith AG, Shah DM, Fraley RT (1989) Isolation of tissue-specific cDNAs from tomato pistils. *The Plant Cell* **1**: 15-24
- Goring DR, Glavin TL, Schafer U, Rothstein SJ (1993) An S receptor kinase gene in self-compatible *Brassica napus* has a 1-bp deletion. *The Plant Cell* **5**: 531-539
- Haring V, Gray JE, McClure BA, Anderson MA, Clarke AE (1990) Self-incompatibility: A self-recognition system in plants. *Science* **250**: 937-941
- Jahnen W, Batterham MP, Clarke AE, Moritz RL, Simpson RJ (1989) Identification, isolation, and N-terminal sequencing of style glycoproteins associated with self-incompatibility in *Nicotiana glauca*. *The Plant Cell* **1**: 493-499
- Kaufmann H, Salamini F, Thompson RD (1991) Sequence variability and gene structure at the self-incompatibility locus of *Solanum tuberosum*. *Mol Gen Genet* **226**: 457-466
- Klark KR, Okuley JJ, Collins PD, Sims TL (1990) Sequence variability and developmental expression of S-alleles in self-incompatible and pseudo-self-compatible *Petunia*. *The Plant Cell* **2**: 815-826
- Lee H-S, Singh A, Kao T-h (1992) RNase X2, a pistil specific ribonuclease from *Petunia inflata*, shares sequence similarity with Solanaceous S proteins. *Plant Mol Biol* **20**: 1131-1141
- Lee H-S, Huang S, Kao T-h (1994) S proteins control rejection of incompatible pollen in *Petunia inflata*. *Nature* **367**: 560-563
- McClure BA, Haring V, Ebert PR, Anderson MA, Simpson RJ, Sakiyama F, Clarke AE (1989) Style incompatibility gene products of *Nicotiana glauca* are ribonuclease. *Nature* **342**: 955-957
- McClure BA, Gray JE, Anderson MA, Clarke AE (1990) Self-incompatibility in *Nicotiana glauca* involves degradation of pollen rRNA. *Nature* **347**: 757-760
- Murfett J, Cornish EC, Ebert PR, Bonig I, McClure BA (1992) Expression of a self-incompatibility glycoprotein (S2-ribonuclease) from *Nicotiana glauca* in transgenic *Nicotiana tabacum*. *The Plant Cell* **4**: 1063-1074
- Murfett J, Atherton TL, Mou B, Gasser CS, McClure BA (1994) S-RNase expressed in transgenic *Nicotiana* causes S-allele-specific pollen rejection. *Nature* **367**: 563-566
- Nasrallah JB, Kao TH, Goldberg ML, Nasrallah ME (1985) A cDNA clone encoding a S-locus-specific glycoprotein from *Brassica oleracea*. *Nature* **318**: 263-267
- Nasrallah JB, Nasrallah ME (1993) Pollen-stigma signaling in the sporophytic self-incompatibility response. *The Plant Cell* **5**: 1325-1335
- Thompson RD, Kirch H-H (1992) The S locus of flowering plants: when self-rejection is self-interest. *TIG* **8**: 381-387

(1994년 9월 15일 접수)