

## *Streptanthus tortus*의 培養細胞로부터 사부 세포의 분리와 분리된 篩部 및 柔組織 細胞에서 설탕의 능동수송

曹鳳姬

水原大學校 自然科學大學 生命科學部

### Isolation of Phloem Cells and Active Transport of Sucrose by Isolated Phloem and Parenchyma Cells of *Streptanthus tortus* Suspension Cultures

CHO, Bong-Heuy

Division of Life Science, the University of Suwon, Suwon, 445-890, Korea.

Protoplasts were isolated from the parenchyma suspension cultured cells of *Streptanthus tortus* using hydrolytic enzymes, 0.03% cellulase + 0.02% pectinase. Phloem cells and companion protoplasts were isolated from differentiated suspension cultured cells using hydrolytic enzymes, 0.2% macerace + 0.03% cellulase + 0.02% pectinase + 0.025 % rohamet PC. Isolated parenchyma- and companion-protoplasts transported glucose into the cells, but not transported sucrose at all. On the other hand, isolated phloem cells transported sucrose into the cells actively, but not transported glucose. These results show for the first time that loading of sucrose into the phloem cells without nucleus was possible without contributing of companion cells and companion cells had not the ability to transport sucrose directly because of lack of sucrose carriers in the membrane. The sucrose transport into the isolated phloem cells depend on metabolic energy.

**Key words:** Isolated phloem cells, sucrose transport, sucrose carrier

녹색식물은 광합성 작용으로 유조직 세포에서 설탕을 생산하여 사부로 보내고, 이 설탕은 식물의 각 필요한 장소에 하적(unloading)시킨다. 유조직 세포에서 사부로 이동되는 설탕의 사부 하적 경로에 대해서는 아직도 논란이 있고, 해결되지 못한 부분이 있다. 즉 설탕이 엽육 세포에서 광합성 작용으로 합성된 후 엽육 세포를 떠나서 사부에 하적될 때까지의 경로에서 apoplast한 경로를 거치는지 또는 symplast한 경로를 거치는지에 대한 상반된 의견이 대립되고 있다 (Giaquinta, 1983; Van Bel, 1989).

또 다른 하나의 문제점은 설탕이 사부에 하적될 때 반세포에 의해서 능동수송된 후 반세포와 사부 사이에 존재하는 원형질연락사나 소포체소관(desmotubule)을 통해서 사부로 이동되어서 하적된다는 견해이다(Giaquinta, 1983). 그러나 사부를 전자현미경적으로 분석한 결과는 식물 종류에 따라서 사부의 구조가 다름을 보여 주었다. 즉 *Ergina*에서는 반세포와 사부 세포 사이에 원형질연락사가 존재하여 반세포에서 사부 세포로 설탕의 이동이 가능하나(Erwee and Goodwin, 1985), *Streptanthus*에서는 사부가 발달하는 동

안 반세포와 사부 세포 사이에 있던 원형질연락사가 새로운 세포벽 합성으로 인하여 차단되어(Cho, 1991), 사부 세포에 설탕의 하적은 apoplast한 경로를 거쳐서 이루어 질 수 밖에 없다. 그러므로 식물에서 유조직 세포인 엽육 세포에서 광합성 작용에 의하여 당류가 합성되지만, 최종적으로 사부 세포에서 설탕이 하적되기 위해서는 apoplast한 경로로 이루어져야 함은 학자들 간에 거의 일치하고 있다. 설탕이 사부에 하적되는 기작은  $H^+$ -sugar-cotransport에 의해서 능동수송되며(Cho and Komor, 1985), 사요소는 운반체를 매개로 한 촉진확산으로 포도당을 확산시키는 것으로 보고되어(Daie and Wilusz, 1987), 사부로 하적되는 당류는 이당류 이상인 설탕만이 가능하다.

설탕이 사부에 하적되려면 사부 세포와 반세포가 반드시 같이 존재해야 된다는 Giaquinta (1983)의 이론을 뒷받침해주는 연구 보고가 있다. 즉, *celery*에서 추출한 사요소에서 설탕이 능동수송됨이 관찰되었고, 포도당과 포도당의 유도체인 3-0-methylglucose는 촉진확산됨이 관찰되어서, 사요소에서 설탕의 하적에는 반드시 반세포가 동반되어야 함이

밝혀졌다(Daie and Wilusz, 1987). 그러나 이 연구에서 사부 세포와 반세포 중 어느 세포가 제일 먼저 설탕을 세포내로 하적시키는데 대해서는 답변을 주지 못했다. 문제는 사부 세포가 먼저 설탕을 하적시킬 수도 있고, 반세포가 먼저 설탕을 하적시킬 수도 있고, 또 반세포는 설탕을 직접 수송할 능력이 전혀 없을 수도 있다.

따라서 본 연구에서는 사부 세포, 유조직 원형질체와 반세포 원형질체를 각각 순수 분리시킨 후, 설탕과 포도당의 수송을 측정하면, 사부 하적에 대한 확실한 정보를 얻을 수 있으리라 판단되므로 각 조직의 순수 분리와 분리된 조직를 이용하여 당류 수송에 대한 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 배양 조건

*Streptanthus tortus* 종자는 1% sodium hypochloride로 10분간 멸균하고, 멸균 증류수로 3번 세척한 후 80% 에틸알코올에서 10분간 소독하여, 멸균된 증류수로 3번 세척한 다음 실험접시에 여과지를 이중으로 깔고 이를 멸균한 후, 소독된 종자를 심어서 25°C 암소에서 발아시켰다. 일주일 후 발아된 자엽으로부터 캘러스를 유도시켰다. 배지는 Murashige와 Skoog (1962)의 기본배지에 2 mg/L의 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)를 넣어서 유조직 세포의 현탁배양액을 만들었고, 사부분화 배양액에는 0.1 mg/L의  $\alpha$ -naphthaleneacetic acid(NAA)와 1 mg/L의 kinetin을 첨가하였다. 배양은 2주에 한 번씩 계대 배양하였고, 사용 24시간 전에 영양분의 고갈을 방지하기 위해서 새로운 배지로 갈아 주었다.

### 유조직 원형질체의 분리

원형질체 분리를 쉽게 일으키기 위해서 유조직 세포 1 g을 0.4  $\mu$ m의 membrane filter를 이용하여 소독된 0.7 M sorbitol과 mannitol에서 1시간동안 전처리시켰다. 그 후 해리용 배지(0.5 M sorbitol과 mannitol + 2 mM CaCl<sub>2</sub> + 0.5 mg/mL bovine serum albumin (BSA) + 5 mM 인산나트륨 완충액, pH 6.0) 10 mL에 0.2% macerage (Calbiochem.)과 0.03% cellulase (Cooper)가 되게 첨가한 후 2시간동안 세포벽을 해리시켰다. 분리된 원형질체는 2500 rpm에서 15분간 원심분리 후 부스러진 세포와 분리된 세포벽을 제거시켰다. 원형질체는 효소만 제외된 해리용 배지로 3번 세척하였다. 12%의 ficoll gradient를 이용하여 2500 rpm에서 20분간 원심분리하여 살아 있는 원형체만을 순수 분리시켰으며, 분리된 원형질체는 즉시 설탕과 단당류인 포도당의 수송에 대한 시료로 사용되었다

### 사세포 유조직과 반세포의 원형질체 분리

배양 세포 1 g을 소독된 0.9 M sorbitol과 mannitol로 1시간동안 전처리하였다. 해리용 배지(0.9 M sorbitol과 mannitol + 2 mM CaCl<sub>2</sub> + 0.5 mg/mL BSA + 0.2 mL/100 mL proteinase inhibitors + 5 mM 인산나트륨 완충액, pH 6.0) 10 mL에 0.2% macerage (Calbiochem) + 0.03% cellulase (Cooper) + 0.02% pectinase + 0.025% Rohamet, PC (Rdehm GmbH)와 pectinase inhibitor로 2  $\mu$ g/mL soybean trypsin inhibitor type I-S + 10.6  $\mu$ M Na-p-tosyl-L-arginine methyl ester + 5.8  $\mu$ M Na-benzoyl-L-arginine methyl ester + 0.8  $\mu$ M leupeptin + 1.1  $\mu$ M pepstatin A가 들어 있는 배지에서 3시간 해리시켰다. 사부 세포들은 매우 예민하여, 해리 효소로 처리할 경우 잘못 처리하면 사부로서의 기능을 상실하는 경우가 있어 추출하기에 어려운 점이 있었다. 그러나 사부 세포 추출의 이점은 사부 세포들은 사부와 목부가 서로 뭉쳐져 있어서 나일론 망을 통과하지 않고 망 위에 있으므로 기계적인 방법으로 손쉽게 추출할 수 있었다. 3시간 해리 효소로 처리된 세포는 200  $\mu$ m 나일론 망을 통과시켜서 망 위에 있는 해리되지 않은 세포를 제거하였다. 망을 통과한 세포는 다시 70  $\mu$ m 나일론 망을 통과시키고, 효소가 제외된 해리용 배지로 3회 세척하였다. 70  $\mu$ m 망 위에 있는 세포는 사부 원형질체, 반세포 원형질체와 사부와 목부가 함유되어 있다. 70  $\mu$ m 망 위에 있는 세포는 다시 150  $\mu$ m 나일론 망을 통과시키면, 망 위에는 사부와 목부 세포의 덩어리만 남고, 원형질체는 망을 통과하게 된다. 망 위에 있는 사부는 해리 효소가 없는 해리용 액으로 여러 번 세척하여 모든 불순물을 제거시킨 후 당류 수송 연구나 현미경으로 사부를 확인하는 데 이용되었다. 망을 통과한 원형질체중 30  $\mu$ m의 망을 다시 통과시키면, 사부 유조직과 반세포의 원형질체가 분리되며, 12% ficoll gradient로 살아 있는 원형질체를 순수 분리시켰다.

### 전자현미경적 방법

순수 분리된 사부 세포를 해리용 배지로 5회 세척한 후 5% glutaraldehyde에서 2시간 고정시켰다. 5 mM 인산나트륨 완충액 (pH 6.5)으로 5회 세척한 후, 2% OsO<sub>4</sub>로 한 시간 고정한 다음, 동일한 완충액으로 3회 세척하였고, 3차 증류수로 3회 세척하였다. 2% uranyl acetate로 30분간 처리한 후 10% acetone에서 95% acetone의 농도 순으로 탈수시켰다. 그 후 100%의 acetone으로 3회 세척하여 시료의 수분을 완전히 제거하였다. Spurr's plastic으로 포매한 후 다이아몬드 칼로 0.8  $\mu$ m 두께로 잘랐다. 염색은 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색시켰다.

### 당류 수송의 측정

추출된 원형질체와 사부 세포는 해리효소가 제거된 해리 용 배지 10 mL에 현탁시켰다. 능동수송의 측정은 0.25  $\mu\text{Ci}$ 의 [ $^{14}\text{C}$ ]-sucrose 또는 0.25  $\mu\text{Ci}$ 의 [ $^{14}\text{C}$ ]-glucose (10  $\mu\text{Ci}/\mu\text{mole}$ )와 방사능이 표지되지 않은 당류를 실험 목적에 따라 희석하여 세포에 직접 첨가하여 시작하였다. 30초 간격으로 1 mL의 시료를 꺼내서 cellulose membrane filter (pore size 1.2  $\mu\text{m}$ ; Schleicher & Scheule, Dassel)로 세포를 모았다. 각 시료는 냉각된 해리액에 10 mM의 당류가 첨가된 완충액으로 2번 씻은 후(이 과정에서 동위원소의 손실이 없음), 무게를 잰 다음, scintillation vial에 넣고 scintillation cocktail (Cho, 1989) 5 mL를 첨가하여 liquid scintillation counter (Beckman LS 9000)에서 측정하였다.

### 결과 및 고찰

#### 사부의 순수 분리

사요소 분리는 cerely에서 처음으로 시도되어 기계적으로 분리되었다(Daie, 1987). 분리된 사요소에는 사부 유조직 세포와 사요소가 다 포함되어 있었으며, 사요소를 통해서 설탕은 능동수송되었다. 그러나 그가 분리한 사요소에는 유조직 세포, 반세포가 사부 세포와 동시에 존재하므로, 어떤 세포나 조직에서 설탕을 처음으로 능동수송시키고 하적시키는지 또는 이 3종류의 세포들이 다 직접 설탕을 능동수송시킬 수 있는지는 밝히지 못하였다. 즉, Giaquinta (1983)의 주장대로 반세포에서 먼저 설탕을 능동수송한 후 반세포와 사부 세포 사이에 있는 가지친 소포체소관과 원형질연락사를 통해서 사부 세포로 하적시키는 것인지, 또는 사부 세포에서 설탕을 수송하는 특수한 설탕 운반체가 있어서 반세포를 거치지 않고 직접 설탕을 능동수송하여 사부 세포로 하적시키는지 또는 사부 세포와 반세포가 동시에 설탕 운반체를 가지고 있어서 설탕을 능동수송시킨 다음 사부 세포로 하적시키는지에 대해서는 분명한 답을 줄 수 없었다. *Streptanthus tortus* 조직배양 세포는 유조직 세포를 분화배지로 옮긴 후 5-20개 정도의 유조직 세포들이 사부 세포로 분화된다는 사실은 이미 보고 되었다(Cho, 1991). 이 분화된 사부 세포들은 고등 식물의 사부처럼 매우 예민하여 조금만 상처를 입어도, 사부의 기능을 상실하게 된다.

사부의 순수 분리를 위해서 고도로 정제된 세포벽 가수분해 효소를 사용했으며, 유조직 세포와 반세포를 해리시킨 다음 나일론 망을 이용하여 이들을 사부 세포로부터 분리시켰다. 사부 세포는 유조직 세포나 반세포와는 달리 세포벽이 두터워서, 가수분해 효소에 의하여 세포벽이 쉽게 가수분해되지 않으므로 사부 세포의 덩어리로 분리시킬 수 있는 이점이 있었다(Cho, 1996).

분리된 사부 세포는 다양한 분화 및 발달 단계에 있었고

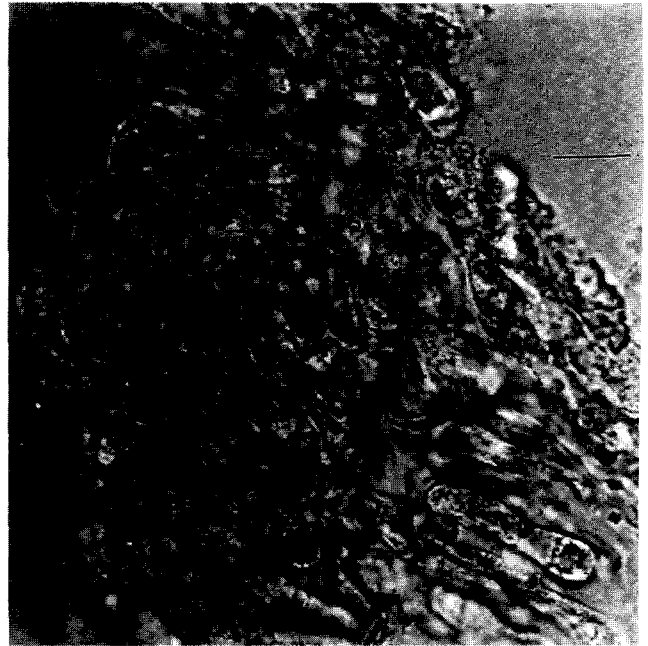


Figure 1. Isolated phloem cells from the cultured cell after 10 days of culture. Various developmental stages were shown, Bar= 31  $\mu\text{m}$ . ST, sieve tube member; P, phloem cell.



Figure 2. Isolated phloem cells from the cultured cell after 10 days of culture. Two phloem cells are connected with sieve plate, Bar = 0.39  $\mu\text{m}$ . PP, p-protein; SP, sieve pore; S, sieve plate.

사관조(sieve tube member)의 구조로 존재하고 있는 것도 있었으며, 광학현미경 하에서도 사부 세포의 고유한 브라운 운동때문에 쉽게 확인할 수 있었다(Fig. 1). 분리된 세포들이 사부 세포임을 정확히 확인하기 위해서 분리 후 매번 광학현미경으로 점검하였고, 전자현미경으로 재차 점검하였다(Fig. 2). 사공, 사관과 사부에만 존재하는 사부 단백질 등이 관찰되어, 분리된 세포가 사부 세포임을 확인할 수 있었다. 이처럼 사부세포만을 순수 분리한 것은 처음 이루어진 연

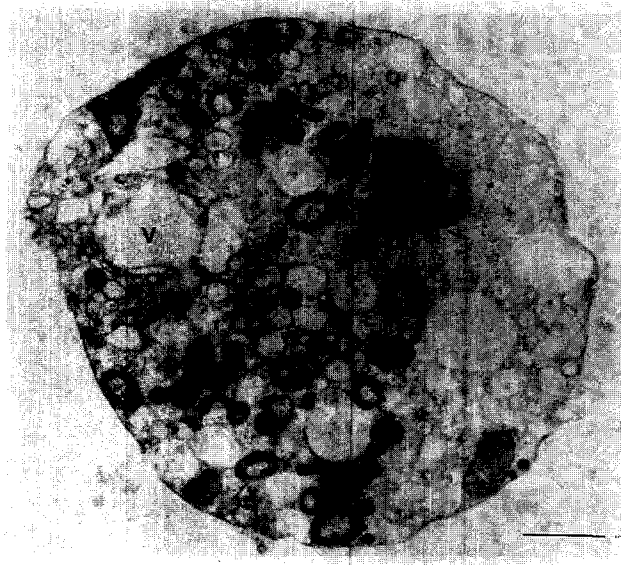


Figure 3. Companion protoplast from a culture cell after 10 Bar = 2 μm. C, chloroplast; M, mitochondria; V, vacuole.

구로, 분리된 사부 세포는 사부 하적에 대한 연구에 중요한 자료를 제공할 것으로 기대한다.

분리된 사부 세포와 원형질체에서 당류의 수송

분리된 사부 세포는 목부와 같이 존재하였고, 목부를 사부 세포로부터 나일론 망을 이용하여 기계적인 방법으로 손쉽게 제거한 후 당류 수송 연구에 사용하였다. 반세포는 사부 세포의 추출도중에 원형질체로 분리시킬 수 있었다 (Fig. 3).

사부 세포는 설탕을 능동수송하지만, 단당류인 포도당은 수송하지 않았다(Table 1). 이 결과는 유조직 세포는 이당류인 설탕 운반체는 지니지 않았으며, 다만 단당류인 포도당이나 과당을 수송할 수 있는 운반체를 지니고 있다는 보고와 일치하고 있다(Cho and Komor, 1985; Cho, 1987). 그러나 유조직 세포에서 사부 세포로 분화하는 동안에 단당류의 운반체는 사라지고(이것은 유조직 세포가 사부 세포로 분화하면 유조직 세포때처럼 단당류를 수송시키지 못하는 것으로 알 수 있음), 그 대신 이당류인 설탕의 운반체가 합성되어서 사부 세포막에 존재함을 직접적으로 보여준 결과다. 사부 세포의 원형질막에는 단당류의 운반체를 지니지 않음을 보여 줌으로써(Table 1), 사부 세포로 설탕의 하적은 직접 고유한 설탕 운반체를 통해서 하적됨을 확실히 증명하였다.

반대로 유조직 세포의 원형질체는 주로 포도당을 수송하였고, 설탕을 약간 수송하는 것처럼 보였다. 그러나 원래의 설탕 시약을 분석한 결과 순수하게 정제된 설탕도 10% 정도의 단당류로 가수분해되어 있었다. 따라서 원형질체에 대

Table 1. Sugar uptake in the isolated cell population of *Streptanthus tortus*.

| Cell population                              | Substrate (5 mM) | Uptake rate (v <sup>a</sup> )<br>(μmol · h <sup>-1</sup> · g packed cells <sup>-1</sup> ) |
|--|------------------|---|
| Phloem cells                                 | Sucrose          | 11.78 ± 1.54  |
|  | D-glucose        | - <sup>b</sup>  |
| Parenchym protoplasts                        | Sucrose          | 1.32 ± 1.63   |
|  | D-glucose        | 7.20 ± 1.87   |
| Phloem parenchym - and companion protoplasts | Sucrose          | 1.25 ± 1.59   |
|  | D-glucose        | 8.50 ± 1.90   |

<sup>a</sup>means velocity of the reaction, in this case, velocity of the sugar uptake.  
<sup>b</sup>means "not detected".

Table 2. Effect of metabolic inhibitor FCCP on sugar uptake in the isolated cell population of *Streptanthus tortus*.

| Cell population       | Substrate                   | Uptake rate (v <sup>a</sup> )<br>(μmol · h <sup>-1</sup> · g packed cells <sup>-1</sup> ) |
|-----------------------|-----------------------------|---|
| Phloem cells          | 5 mM Sucrose                | 11.76 ± 1.54  |
|                       | 5 mM Sucrose + 50 μM FCCP   | 0.82 ± 1.11   |
| Parenchym protoplasts | 5 mM D-glucose              | 7.20 ± 1.87   |
|                       | 5 mM D-glucose + 50 μM FCCP | 0.51 ± 1.59   |

<sup>a</sup>means velocity of the reaction, in this case, velocity of the sugar uptake.

한 설탕의 수송(Table 1)은 인위적임이 확인되었다. 그러므로 1.32 μmol · h<sup>-1</sup> · g packed cells<sup>-1</sup>은 설탕이 가수분해되어 단당류로 수송된 결과다.

분화된 세포에서 분리된 사부 유조직 세포와 반세포의 원형질체에서의 당류수송에 대한 결과는 유조직 원형질체에서의 당류 수송의 결과와 유사하였으므로, 설탕을 능동수송시킬 능력이 없음을 알 수 있었다. 마찬가지로 사부 유조직 세포의 원형질체와 반세포 원형질체에서(Table 1) 설탕의 수송은 단당류로 가수분해된 설탕이 단당류 운반체를 통해서 수송된 결과이므로 인위적인 결과다.

사부 세포에서 설탕의 수송은 에너지 대사 방해물질인 50 μM carbonyl cyanide p-(trifluoromethoxy)phenylhydrazone (FCCP)에 의해서 방해당하였으므로, 설탕의 수송은 에너지 의존적인 것으로 나타났다(Table 2). 따라서 분리된 사부 세포에서 설탕은 능동수송으로 하적됨을 보여 주었다. 유조직 세포에서 포도당의 수송도 대사 방해물질인 FCCP에 의하여 방해 당하였으므로, 유조직 세포를 통한 포도당의 수송은 능동수송됨을 알 수 있었다.

이상의 결과는 Giaquinta (1983)의 이론과 반대되는 것으로 *Streptanthus* 사부 세포에서 설탕의 하적에는 반드시 반

세포와 사요소가 있어야 된다는 학설에 타당성이 없음을 입증해 주는 것이며, 반세포는 설탕의 하적 능력이 없을 뿐만 아니라, 설탕을 능동수송시킬 수 있는 운반체도 없음을 밝힌 것이다.

사부 세포가 발달하는 첫단계에서 유조직 세포가 불균등한 세포분열을 하여 사부 세포와 반세포로 분리됨은 이미 보고되었다(Cho, 1991). 그 후 사부 세포는 죽음에 이르는 apoptosis 현상을 나타내어 핵이 없는 상태로 전환된다(Cho, 1996). 그렇다면 사부 세포가 발달하는 동안 또는 발달한 후 반세포의 역할은 무엇인가 하는 의문이 제기된다. 하나의 가능한 추측은 유조직 세포에서 사부 세포로 분화 발달하는 초기에 이미 핵이 파괴되므로(Cho, 1996) 사부 세포로 분화되는 동안 필요한 영양분이 고갈될 것이다. 사요소 중 반세포는 엽록소를 가지고 있어서 일부 영양분을 발달하고 있는 초기 사부 세포에 제공하거나, 유조직 세포로부터 원형질연락사를 통해서 확산된 양분을 제공해 주는 역할을 하지 않을까 추측된다. 그 이유는 사부 세포가 발달하는 동안과 발달한 후에도 사부 세포와 반세포 사이에는 원형질연락사로 연결되어 있기 때문이다(Cho, 1991). 그 후 사부 세포가 완전히 발달하면 반세포는 그의 고유한 기능을 상실하거나 또는 다른 유조직 세포와 동등한 생리적인 역할을 하는 것으로 사료된다.

## 적 요

*Streptanthus* 조직 배양 세포를 사용하여 사부를 순수분리시키고, 분리된 사부에서 사부 하적에 대한 기작을 규명하기 위해 다음 연구를 하였다. 유조직 세포는 0.2% macerase와 0.03% cellulase의 가수분해 효소로 처리하여 원형질체를 얻었고, 분화된 세포에서는 0.03% cellulase + 0.02% pectinase + 0.2% macerase + 0.025% rohamet PC로 가수분해시켜서 순수한 사부 세포와 사부 원형질체와 반세포의 원형질체를 분리하였다. 분리된 유조직 세포와 반세포의 원형질체에서는 단당류인 포도당을 수송시키나, 설탕은 수송시키지 못했다. 반면 분리된 사부 세포는 설탕을 능동수송시키나 포도당은 수송시키지 못했다. 이는 설탕의 사부 하

적은 반세포 없이도 가능하며, 반세포는 설탕 운반체가 없어서 설탕을 직접 수송할 수 있는 능력이 없다는 것을 보여 주는 것이다. 그리고 사부 세포에서 설탕의 수송은 에너지 대사에 의존하는 능동수송으로 나타났다.

사사 - 본 연구는 한국과학재단 특정기초연구지원(과제번호 96-0401-10-01-3)에 의해 수행되었다.

## 인 용 문 헌

- Cho BH (1987) Analysis of the two affinity system of the uptake of fructose in suspension culture cells. *Korean J Bot* 30: 277-285
- Cho BH (1989) The specific basic amino acid transport system in suspension culture cells. *Korean J Plant Tissue Culture* 16: 195-202
- Cho BH (1991) Structural consideration of the translocation and the mechanism of phloem loading of *Streptanthus* cells in suspension culture. *Korean J Plant Tissue Culture* 18: 89-93
- Cho BH (1996) Phloem differentiation in cell culture of *Streptanthus tortuosus*. *Korean J Plant Tissue Culture* 23: 107-111
- Cho BH, Komor E (1985) Comparison of suspension cells and cotyledons of *Ricinus* with respects to sugar uptake. *J Plant Physiol* 118: 381-390
- Daie J (1987) Sucrose uptake in isolated phloem segment of celery is a single saturable transport system. *Plant* 171: 474-482
- Daie J, Wilusz EJ (1987) Facilitated transport of glucose in isolated phloem segment of celery. *Plant Physiol* 85: 711-715
- Erwee MG, Goodwin PB (1985) Symport domains in extrastelar tissue of *Egeria densa* Planar. *Plant* 163: 9-19
- Giaquinta RT (1983) Phloem loading of sucrose. *Annu Rev Plant Physiol* 34: 347-387
- Murashige T, Skoog E (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497
- Van Bel AJE (1989) The challenge of symplastic phloem loading has no universal validity. *Plant Physiol Biochem* 25: 677-686

(1997년 4월 24일 접수)