

高等植物의 細胞融合

李 榮 日

〈韓國에너지연구소放射線農學研究室·農傳〉



지난 10년 동안 高等植物의 細胞融合은 體細胞雜種(Somatic cell hybrid) 植物을 얻을 수 있는 획기적인 유일한 수단으로 등장했다. 원래

雜種植物을 얻는데는 交雜이 가능한 植物들끼리 자연 혹은 人工交配에 의해서 有性的으로만이 가능했던 것이나 細胞融合에 의한 體細胞雜種은 인위적으로 試驗管内(in vitro)에서 體細胞들끼리 融合을 시키고 이 融合된 雜種細胞에서 植物體를 無性的으로 만들어 낸 것이다. 그래서 交配에서 얻어진 有性的雜種植物과 體細胞融合에 의해 만들어진 無性的 雜種植物과는 細胞質 또는 核相의 構成面에서 완전히 다르다. 가령 2倍體 他家受精作物을 예로 들면 有性生殖을 거쳐 잡종이 생길 경우 일단 減數分裂(miosis)를 거치기 때문에 雜種植物은 원래 親과 같이 染色體數가 똑같이 2倍性으로 되고 細胞質은 母親의 것만을 받게 되는데 體細胞雜種을만들게 되면 2倍性的의 세포들끼리 融合이 되므로 4倍體植物이 되는 셈이고 또 細胞質에 있어서도 兩親이 똑같은 비율로 細胞質이 합쳐지기 때문에 核內物質과 細胞質間의 관계는 한층 복잡해지게 된다. 물론 生殖細胞들끼리의 細胞融合도 생각할 수 있지만 예외적이므로 여기서는 體細胞에 관해서만 論하기로 한다.

體細胞融合은 조직으로부터 세포를 解離시켜 細胞膜을 제거해서 原形質體(Protoplast)를 만들고 이 原形質體끼리 融合케하는 것이다. 이 融合된 雜種原形質體에 다시 細胞膜을 재생시켜 雜種細胞集團을 얻고 여기서 植物體로 분화시키면 이것이 곧 細胞融合에 의해서 만들어진

雜種植物이다. 이와같은 細胞融合은 세포에서 細胞膜을 제거시키는 기술의 발달로 가능하게 되었는데, 처음에는 機械的 方法에 의해서 세포로부터 原形質體를 裸出시키던 것이 최근에는 各種酵素를 이용한 方法이 등장하게 됨으로써 原形質體培養, 細胞融合, 形質轉換 등의 연구가 본격적으로 활발히 진행되었고 특히 細胞融合面에서 큰 관심을 모으게 되었다.

「Klecker (1892)」는 처음으로 機械的 方法에 의해서 *Stratiotes aloides*에서 原形質體를 분리해 냈고 Tornava(1939), Tribe(1955), Whately(1956) 등이 이 方法으로 각각 무우, 오이, Beet 등에서 原形質體를 얻은바 있으나 培養을 목적으로 한 것이 아니며 酵素를 이용하여 原形質體를 裸出시킨 최초의 研究者는 英國의 「Cocking (1960)」이었다.

그후 「Power et al (1970)」은 原形質體의 融合可能性을 제시하였고 原形質體로 부터 植物을 再分化(Redifferentiation)시킨 것은 「Nagata and Takebe」와 「Nitsch and Ohyama (1971)」가 담배에서, Grambow et al. (1971) 이 당근에서 각각 성공하였다. 이어서 「Carlson (1972)」를 비롯하여 「Melchers and Labib(1974)」, 「Smith et al. (1976)」등이 原形質體融合에 의해 細胞雜種을 얻는데 성공하게 되어 細胞融合에 일대 혁신을 가져오게 되었으며 1981년 現在 高等植物에서 原形質體培養에 의해서 同種間 혹은 異種間(Intraspecies or Interspecies)의 細胞融合에 성공한 것도 40여種이 된다. 또한 異屬間(Intergenera)에 細胞融合의 예는 15種이 있으며 異種間細胞融合에 의하여 雜種植物을 만들어 낸 것도 16種이 발표되었다. 특히 屬間細胞融合에 의하여 얻어진 「雜屬植物」로서 감자와 도마도의 細胞融合인데 감자를 많이 담은 것은

“Pomatoes”라고, 또 도마도를 닮은 것은 “Tomatoes”라고 Melchers (1980)는命名했다.

실제 植物細胞에서 細胞膜을 제거하고 原形質體를 얻는 것은 현재로서 별 문제가 안되나 여하히 하면 세포의 고유의 形質을 유지하면서 살아 있는 상태의 것을 얻을 수 있는가가 가장 중요한 문제가 되는 것이며 또 原形質體로 부터 완전한 植物體로 再分化 (Redifferentiation) 시켜야 하는 어려운 과정이 따르는데 單一細胞에서 완전한 植物體로 분화되는 능력 소위 全体形成能 (Totipotency)이 있어야만 하기 때문이다. 이 全体形成能은 현재 어떤 식물이나 모두 지니고 있는 것은 아니며 극히 제한된 종류의 식물에서만 再分化가 가능한데, 현재까지 약 70種에서만 이 능력을 지니고 있다고 보고되었으나 培養技術의 발전에 따라 그 범위가 넓어질 가능성은 높다고 본다.

高等植物의 細胞膜은 cellulose, hemicellulose, pectin, protein, lignin 등으로 구성되어 있는데, 그 함유율 또는 구조가 식물의 種類, 部位, 또는 組織의 分化程度에 따라 각각 다르고 또 生長時의 外的條件에 따라서도 crystallinity나 lignin化 등이 매우 다르기 때문에 細胞膜을 제거하는데 동일한 酵素를 처리해도 原形質體가 裸出되는 것과 안되는 것들이 있다. 현재 細胞膜을 제거하는데 사용하는 酵素는 cellulase, Hemicellulase, pectinase 등을 단독 혹은 혼합 처리하고 있는데 이들 酵素는 細胞膜을 제거하는 외에도 原形質體에 악영향을 미치기 때문에 되도록 순수해야 하는데 cellulase만 하더라도 nuclease, lipase, proteolytic enzymes 등 여러가지 酵素가 混入된 상태에서 原形質體에 해를 끼치게 된다. 그러므로 다양한 酵素의 개발은 물론 適正使用法 또는 酵素의 純化 (purifying) 면에서도 더한층 진보되어야 할 것이다. 原形質體를 세포로부터 裸出시킬 때는 적당한 plasmolysis의 유지가 필요한데 이때 plasmolyticum 으로서는 mannitol, sorbitol, sucrose, NaCl, KCl 등을 사용하는데 濃度에 따라 原形質의 流動 (cyclosis)에 영향을 주기 때문에 適正濃度를 유지해야 하며 적당한 plasmolyticum의 개발도

요구된다. 적당한 plasmolysis를 유지시켜주는 데는 細胞膜과 原形質體間에 간격을 만들어 줌으로써 처리한 酵素가 細胞膜除去에만 관여하게 하고 原形質體에는 되도록 영향을 미치지 못하게 하는 物理的措置가 되어 살아있는 상태의 原形質體를 얻는데 큰 역할을 해준다.

일단 裸出된 原形質體를 無機 또는 有機物과 生長調節物質 또는 plasmolyticum이 適正含有된 培地에 옮겨 培養하면 細胞膜이 재생되는데 原形質의 plasmalemma표면에 multilamella가 형성되고 그 사이에 fibril이 형성되면서 cellulose層이 생기는 한편, 核分裂이 진행되면서 核間에 細胞膜이 생겨 細胞分裂 (cytokinesis)을 하여 직접 胚狀體 (embryoid), callus 혹은 多細胞體塊 (cell mass)로 자라게 된다. 이들 callus나 細胞塊를 적당한 分化培地에 옮겨 培養하게 되면 완전한 植物體로 再分化되는데 어떤것은 분화되지 않고 未分化 (Didifferentiation) 상태로 남아 있는 것이 있다. 이 未분화와 再분화로 옮겨지는 必須條件에 대해서는 아직도 모르는 점이 너무 많기 때문에 이 분야의 연구가 더욱 활발히 수행되어야 할 것이다.

裸出된 原形質體는 培養基에서 임의로 맞붙게 되면 소위 세포융합이 이루어지는데 이때 sodium nitrate나 PEG (polyethylene Glycol)와 같은 융합 觸媒劑를 쓰면 융합이 훨씬 촉진되는 것으로 알려졌다. 同種의 原形質體이건 異種의 것이건 부착만 되면 융합이 가능하여 細胞膜의 재생까지는 큰 지장없이 진행되는 것으로 알려졌다. 그러나 核融合은 임의로 이루어지질 않고 核內物質의 親和性 與否에 따라 융합되는 것과 안되는 것으로 나누어진다. 대체로 近緣種끼리의 융합은 잘되나 遠緣種일수록 안되는 경향으로 나타나고 있지만 例外가 많다. 즉 식물과 動物細胞와 같은 界 (kingdom)가 다른것끼리의 융합을 시켰을 때 核融合이 될뿐만 아니라 初期分裂까지 진행되는 것을 관찰한 보고도 있고, 또 亞分類에서 Taxon이 멀다고 보였던 것도 核融合이 잘되는 경우가 있기 때문에 核融合과 類緣關係는 금후 연구가 진보되어야 할 것이다. 일반적으로 遠緣間 細胞融合에 의한 잡종을 만

들면 染色體의 일부가 消失되어 異數染色體 (aneuploid)가 많이 발생하는데 兩親中 어느 한쪽 親의 染色體가 완전히 消失되는 것이 나타난다. 비교적 核끼리 親和性이 있는 異種間에는 核融合이 무난히 이루어져 hybrid (amphiploid)가 된 까닭에 그 형태도 兩親의 中間形態를 나타내

는 것이 일반적인 경향이지만, 만일 前述한 바와 같이 兩親中 어느 한쪽 親의 染色體가 완전히 消失되어 버리는 경우는 cybrid가 되어 한쪽 親만이 닮게 된다. 體細胞雜種의 實例와 形態的特性이 兩親의 中間形態를 띄고 있는 예는 다음<표>에서와 같다.

INTERMEDIATE MORPHOLOGICAL CHARACTERS OBSERVED IN SOMATIC HYBRID PLANTS

| Character | Somatic Hybrids | Reference |
|--|---|------------------------|
| Floral length | Nicotiana glauca+N. langsdorfii | Smith, et al., 1976 |
| Corolla diameter | Nicotiana glauca+N. tabacum | Evans, et al., 1980 |
| Corolla morphology | Datura innoxia+D. stramonium | Schieder, 1978 |
| Intensity of floral pigment | Petunia Parodii+P. parviflora | Power, et al., 1980 |
| Pedicle length | Petunia parodii+P. parviflora | Power, et al., 1980 |
| Seed capsule morphology | Datura innoxia+D. stramonium | Schieder, 1978 |
| Leaf shape | Nicotiana rustica+N. tabacum | Nagao, 1978 |
| Leaf area | Daucus carota+D. capillifolius | Dudits, et al., 1977 |
| Petiole length | Nicotiana glauca+N. tabacum | Evans, et al., 1980 |
| Trichome length | Petunia parodii+P. parviflora | Power, et al., 1980 |
| Trichome morphology | Nicotiana otophora+N. tabacum | Evans, in prep. |
| Trichome density | Nicotiana glauca+N. langsdorfii | Carlson, et al., 1972 |
| Stalk diameter | Nicotiana rustica+N. tabacum | Nagao, 1978 |
| Root morphology | Daucus carota+D. capillifolius | Dudits, et al., 1977 |
| Tuber morphology | Lycopersicon esculentum+Solanum tuberosum | Melchers, et al., 1978 |
| Growth rate on mannitol culture medium | Nicotiana sylvestris+N. tabacum | Zelcer, et al., 1978 |

EVANS (1981)

地上에는 토마토가 地下에는 감자가 주렁 주렁 달리는 雜種植物의 출현을 기대하는 것이 研究者들의 욕망이겠으나, 감자도 토마토도 달리 지 않은 雜種植物인 potatoes가 나온다는 것은 細胞融合에 의한 雜種植物의 직접 이용에 아직 큰 기대를 가질 수 없다는 엄연한 현실이고 이 식물들이 이용되기 까지는 많은 연구가 뒤따라야 할 것이다. 다만 지금까지 生殖的隔離에 의한 有性的雜種의 變異幅보다 體細胞雜種에 의한 遺傳的 變異幅 (genetic variability)이 훨씬 넓기 때문에 育種의 素材로서의 이용이 가능할 것이며, 앞서 記述한 cybrid는 育種에서 F₂種子生産에 쓰여지고 있는 雄性不稔個體를 얻는 核置換의 수단으로 활용할 수가 있는데 좀더 적극적으로 제거하려는 片親의 세포에 放射線을 照射시켜 세포융합을 시키면 간단하게 核置換된 cybrid를 얻을 수가 있다. 또 細胞質에는 耐病性因子같은 抵抗性遺傳物質이 있기 때문에 기왕 交雜에 의한 抵抗性의 도입은 여러차례의 Back-cross를 거쳐야 하나 體細胞雜種을 만들면 短時

日에 옮겨 넣을 수가 있다.

그러나 體細胞雜種은 核物質의 융합뿐만 아니라 細胞質도 똑같이 이루어지기 때문에 核內 遺傳子와 細胞質內의 因子間의 관계가 어떤 양식으로 표현될 것인지는 아직 모르는 점이 많고 Heterokaryon 상태에서 어느쪽 染色體는 남아있게 되는데 어느것은 消失되어야 하는지등의 관계 역시 未知의 상태라서 雜種植物의 遺傳樣式을 보다 광범위하고도 면밀히 밝혀야만 세포융합에 의한 雜種植物의 활용에 차질이 없을 것으로 본다.

原形質體培養의 이용면에서 볼때 前述한 直接利用보다는 오히려 原形質體에 원하는 核이나 葉綠體를 micro-cell形態로 삽입한다던가 또는 微生物에서와 같이 vector를 이용한 DNA의 移植등 그 식물에 보일해야 할 特定因子만을 떼어 넣어 形質轉換 (Transformation)을 시키는 기술의 개발이 바람직하며, 현재 이 분야의 연구가 급속도로 진행되고 있어 기대가 주목된다.