

根瘤菌과 宿主植物의 相互作用에 관한 렉틴의 役割

張茂雄* · 全瓊姬* · 朴元學*

Role of Lectins in Host Plant-*Rhizobium* Interactions

Moo Ung Chang*, Kyung Hee Jeune-Chung*, Won Hark Park*

ABSTRACT

Experiments were carried out to elucidate the specific interactions between host plant, *Phaseolus vulgaris*, and symbiotic bacteria, *Rhizobium phaseoli*. Purified *P. vulgaris* lectins and six species of cultured *Rhizobium* were subjected to agglutination test. Lectins from bean and *R. phaseoli* showed relatively high agglutination activity indicating that host plant lectins recognize carbohydrate moieties on the compatible *Rhizobium* cell surface. The specific carbohydrate receptors for binding of the lectins on the cell surface of *R. phaseoli* were found as mannose and galactose. The minimum concentration of sugars for the inhibition was 6.25mM.

The lectin content of cultured plant roots was measured after germination and was maximum in 5-day seedlings. The nodulation was competitively inhibited by lectins for the plants cultured with *Rhizobium* cells. By immunochemical studies, there was some relationship in antigenic determinants between *R. phaseoli* and *R. japonicum* but no relationships were observed with other *Rhizobium* species. The results suggest that the infection by rhizobia to the roots of leguminous plants may be caused by the specific interaction of lectins with rhizobia.

서 론

자연계에 존재하는 생물체내에는 어떤 특성의 화합물과 결합할 수 있는 능력을 가진 다양한 단백질성 물질(예 : 효소, 항체등)이 함유되어 있다. 이런 부류에 속하는 것으로써 주로 식물에서 발견되며, 적혈구와 그 외 몇가지 특수한 세포(예 : 섬유모세포, 랩프구등)를 응집시키는 특수한 성분인 렉틴(lectin)은 오래전부터 알려져 왔으며 식물이나 하등동물에서의 항체로 비유되어 왔으나, 생체내에서의 확실한 생리적 역할과 그 구조에 대하여서는 거의 규명되지 않았다. 렉틴은 그 본체가 단백질 혹은 당단백질로서 식물외에도 하등

동물이나 미생물계에서도 발견되는등 광범위한 분포를 가지며, 특히 콩과식물은 풍부한 렉틴을 함유하고 있을 뿐만 아니라 대두나 작두콩의 단백질 함량중 1.5~3.0%가 렉틴인 것으로 알려져 있다.

렉틴은 2~3개의 결합부위를 가지고 주로 세포막 표면에 있는 당류와 결합할 수 있는데, 예를 들어 작두콩(jack bean) 렉틴인 ConA는 D-glucose, D-mannose와 결합을 하고, 대두(soybean)에서 얻어지는 렉틴은 D-galactose, N-acetyl-D-galactosamine과 결합을 한다. 이들 당은 렉틴과 세포막 표면에 있는 당과의 결합을 방해하여 응집을 저해하기 때문에 이 방법으로 결합부위를 조사할수가 있다^{15, 20}.

당 특이성이 확인되면서부터 렉틴을 도구로한 당지

*영남대학교 생물학과

○ 논문은 1982년도 문교부 학술연구조성비(특별과제)에 의하여 연구되었음

질 및 당단백질에 대한 연구가 활기를 띠기 시작했는데 최근에는 렉틴을 도구로 하여 정상세포와 종양세포의 세포막 구조에 대한 비교연구 및 B-림프구와 T-림프구의 역할에 대한 비교가 활발하다¹²⁾.

렉틴은 주로 식물의 종자류에 많이 분포하는 것으로 Liener¹⁴⁾, Hankins와 Shannon¹⁰⁾ 등의 보고에서 알려져 있다. 그들은 종자식물에 있어서 렉틴의 분포가 잎, 줄기, 가지에서는 그 농도가 적으나 종자에서는 농도가 크게 나타난다고 했으며 이는 종자전체 단백질의 2~10%에 해당하는 것으로 보아 식물체내에서 어떤 중요한 생화학적 역할을 맡고 있을 것이라 추측하였다.

한편, 뿌리혹 박테리아가 숙주식물을 인식하여 공생하는 관계는 여러 학자들의 관심을 불러일으켰는데, 그 중에서도 특히 질소고정 능력을 갖고 있는 콩과식물과 근류균(*Rhizobium* sp.)과의 상호인식 및 결합에 관한 연구가 선진 외국에서 1970년도 중반부터 활발히 진행되기 시작하였다.

이들중 대표적인 것으로서, 1974년에 Bohlood과 Schmidt²³⁾가 대두 종자 렉틴과 뿌리혹을 형성시키는 공생 대두근류균 및 그의 수십종의 근류균을 대상으로 한 결합 특이성 유무를 실험하여 렉틴이 근류균을 인지하는 선행작용이 있어야만 뿌리혹이 형성된다는 것을 시사했고, 그후 Dazzo와 Hubbel⁷⁾이 토끼풀 뿌리로부터 얻은 렉틴과 근류균 *R. trifolii*의 특이적인 상호작용에 의해 역시 뿌리혹 형성이 이루어지고 동시에 질소 고정 효과가 나타나는 것을 관찰하였다. 이외에 Ozawa와 Yamaguchi¹⁹⁾도 대두의 세포배양을 이용하여 대두 렉틴과 근류균의 상호인식작용을, Bauer¹⁾는 전자현미경을 이용하여 대두렉틴의 근류균에 대한 결합부위가 근류균의 세포벽이라는 것을 관찰했으며 이외에도 많은 학자가 이 분야의 연구를 발표했다⁹⁾.

그러나 작두콩의 렉틴은 근류균과 특이성이 없다는 보고도 있었으며⁶⁾, 따라서 지금까지의 실험으로는 현재 식물 숙주와 근류균의 특이성이 완전히 입증된 것이 아니고 아직은 가설 단계에 있다는 사실을 알 수 있다.

본 연구실에서는 토양중의 질소고정균(*Rhizobium* spp.)이 숙주인 콩과식물에 감염될 때 단백질성 물질인 렉틴이 중개역할을 한다는 여러 연구⁹⁾에 힘입어, 아직 활발한 연구대상이 되지 않은 강남콩(*Phaseolus vulgaris*)을 선정하여 이로부터 추출한 렉틴과 *Rhizobium phaseoli*와의 결합 및 숙주 특이성에 관한 광범위한 실험을 수행하였고, 또한 숙주렉틴과 근류균의 결합부위에 대하여도 연구 검토하였다.

재료 및 방법

공시 콩과식물은 한국산 강남콩 *Phaseolus vulgaris* (Leguminosae)를 실험재료로 하였으며, DEAE Sephadex A-50은 pharmacia Fine Chemicals에서, Freund's adjuvant는 Difco Lab.에서, D-mannose는 Sigma에서 D-galactose, L-fucose, N-acetyl-D-galactosamine, N-acetyl-D-glucosamine등은 Wako Chemicals, hydroxyapatite는 Japan Chemicals에서, 기타 시약은 특급내지 일급시약을 구입하여 사용하였다.

강남콩 종자로부터 적혈구 및 림프구 응집 렉틴(EL-렉틴)의 분리

Crude 렉틴의 분리의 실험은 4°C에서 행하였으며, 모든 완충용액에는 0.02% sodium azide를 넣어주었고 Chung⁵⁾의 방법에 따라 crude렉틴의 분리 및 EL-렉틴의 정제를 시도하였다.

EL-렉틴의 분리 및 정제는 salt fractionation하여 얻은 crude렉틴을 ion exchange chromatography와 hydroxyapatite column chromatography에 의하여 적혈구 응집능력과 림프구 응집능력을 함께 가지는 EL-렉틴을 분리, 정제하였다.

혈구응집효과 측정은 Jeune-Chung¹²⁾의 방법으로 측정하였고, 세포의 종류로서는 human erythrocytes A⁺ group과 human periperal lymphocytes 그리고 mouse lymphocytes을 이용하였다.

강남콩의 수경재배 및 부위별 렉틴 함량 조사

강남콩의 수경재배는 *Phaseolus vulgaris*의 변종인 흰강남콩 종자 1kg을 취하여 1.5l의 물에 담구고 살균제 6g을 섞어서 12시간 살균시킨 후, 절망위에서 매 시간 관수하고 평균 15~22°C의 실내온도에서 발아 및 성장시켰다. 이 실험은 자엽이 떨어질때까지 10일간 계속되었다.

종자 및 유묘의 성장에 따른 렉틴의 부위별 추출은 종자가 발아하여 성장할 때까지 렉틴이 어떻게 이동하는가, 또한 분포상태는 어떠한가를 알아보기위해 종자 상태, 1일째의 유묘, 3일째의 유묘, 5일째의 유묘, 7일째 및 10일째의 유묘로 나누어서 1g씩 채취하였으며, 한편 뿌리는 2cm, 4cm, 6cm, 8cm, 10cm, 12cm 자랐을때 각각 3g씩 취하여 렉틴의 함량을 조사하였다. 함량은 토끼의 적혈구 3%용액을 사용하여 렉틴과의 응집상태로 확인했다.

근류균의 분리 및 배양

영남대학교 근처 밭에서 재배하는 흰강남콩(*P. vulgaris*)의 근류에서 분리한 *Rhizobium phaseoli*의 균주를 사용하였고, 한편 type strain으로는 *R. phaseoli*

(ATCC 14482), *R. meliloti*(ATCC 9930), *R. lupini* (ACTT 0319), *R. trifolii*(ATCC 14480), 그리고 *R. japonicum*(ATCC 10324), *R. leguminosarum*(ATCC 10004)등을 일본 동경대학 응용미생물연구소에서 구입하였다. 이 균들은 Skinner와 Lovelock²¹⁾의 방법에 의해 작성된 고체배지에서 증식, 보존시켰으며, 액체배양은 Burton³⁾의 방법에 따라 만든 액체배지에 접종시켜 shaking incubator에서 28°C고 유지하면서 6일간 증식시켜 수확했다.

R. phaseoli의 배양단계와 강낭콩 렉틴의 응집역가 측정

*R. phaseoli*를 액체배지에 증식시키면서, 2일, 4일, 6일째에 채취하여 crude렉틴과의 응집역가를 측정하였다. 측정방법은 microtitration plate를 사용하였으며, 이때 사용한 rhizobia는 액체배지에서 수확 후 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻어진 pellet (wet weight 0.1467g)를 5mM Tris-HCl buffer(pH 8.0)로써 130배로 희석한 뒤 20 μ l를 각 well에 취하였으며, crude렉틴은 280nm에서 O.D.가 28인 것을 사용하여, 적혈구응집반응배와 같이 serial two-fold dilution하였으며, 응집의 유무판정은 5시간후에 광학현미경(500배)으로 검경하였다.

R. phaseoli와 정제된 EL-렉틴의 응집역가 측정

crude 렉틴과 응집이 가장 잘되는 배양시기의 *R. phaseoli*를 취하여 DEAE Sephadex A-50에서 정제된 렉틴 및 Hydroxyapatite에서 정제된 EL-렉틴과의 응집역가를 측정하였으며, 한편 EL-렉틴과 *R. leguminosarum*, *R. trifolii*, *R. meliloti*, *R. lupini*, *R. japonicum*과의 응집유무도 조사하였다.

당류의 Rhizobia 응집저해효과 측정

D-glucose, D-mannose, D-galactose, L-fucose, N-acetyl D-glucosamine, N-acetyl-D-galactosamine 등 6종의 당을 각각 100mM, 50mM, 25mM, 12mM, 6mM 용액으로 만들어서 사용하였으며, rhizobia 응집저해 시험은 microtitration plate를 사용하여 실시하였다. 먼저, 5mM tris-HCl buffer(8.0)를 각 well에 50 μ l씩 넣은 뒤, 1,2번 well에 렉틴을 50 μ l씩 넣고 2번 well에서부터 2-fold dilution 한후에, 6종의 당을 50 μ l씩 넣었으며, 마지막에 rhizobia를 20 μ l씩 첨가하였다. 한편 rhizobia 20 μ l씩을 먼저 넣고, 마지막에 6종의 당을 넣는 시험도 하였으며, 결과는 3시간, 5시간, 8시간, 24시간 간격으로 검경하였다.

R. phaseoli의 인공감염 시도 및 EL-렉틴의 효과측정

가압증기 살균된 vermiculite에 흰강낭콩을 심고, 증류수로써 밭아시킨뒤, 액체배지에서 수확한 *R. phaseoli*를 1ml씩 사용동안 감염시켜서 뿌리혹 형성의 시

기를 측정하였으며, 동시에 흰강낭콩 종자로부터 얻은 crude렉틴(O.D.=10)을 15ml씩 사용동안 주입시켜서 뿌리혹 형성의 상호경쟁적 저해여부를 관찰했다.

항 혈청을 이용한 근류균의 특이성 입증

Immunization은 Howard와 Shannon¹¹⁾의 방법을 이용하였으며, 액체배지에서 수확한 *R. phaseoli*를 10,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻은 pellet를 10ml 0.15M NaCl용액에 녹인뒤에 Carborandum(200 mesh)으로 분쇄하여 찌꺼기는 버리고, 다시 1,000rpm으로 원심분리한 후 상층액을 취해 O.D. 10이 되도록 0.15M NaCl용액으로 희석한 뒤, 0.5ml를 다시 취하고 complete Freund's adjuvant 0.5ml와 섞어서 토끼 허벅지의 림프절에 3일간 3회 주사하였다. 그후 24일후에 시료 0.5ml와 incomplete Freund's adjuvant 0.5ml를 섞어서 3일간 3회 주사하고 6일후부터 채혈하였다. 토끼에서 혈액을 채취한 후에는 2,000rpm으로 원심분리하여 그 혈청을 냉동보관하였다.

Immunodiffusion은 Ouchterlony¹⁹⁾의 two dimensional double diffusion 방법으로 EL-렉틴과 *R. phaseoli* 등 배양한 6종의 rhizobia를 항원으로 하여 실시하였다. 이때 사용한 gel은 agar 1g을 barbital buffer(0.1M sodium barbital을 함유한 0.1M HCl용액, pH 8.2) 100ml에 0.02% sodium azide를 첨가한 뒤 끓여서 만들었다.

결과 및 고찰

EL-렉틴의 분리, 정제

EL-렉틴의 분리 및 정제는 Chung등⁵⁾의 결과와 같았다.

DEAE Sephadex A-50 column에 의한 정제는 crude 렉틴을 anion exchanger인 DEAE Sephadex A-50 column에 주입시키고 25mM Tris-HCl buffer(pH 7.4)에 50mM, 0.1M, 0.2M의 NaCl 용액을 넣어 유출시켰으며 이중에서 흡광도와 적혈구 응집효과가 나같이 높은 0.2M NaCl 유출부분을 수거하였다.

Hydroxyapatite column에 의한 EL-렉틴의 분리 및 정제는 DEAE Sephadex A-50 column에서 얻은 0.2M NaCl 유출부분을 chromatography한 결과 0.3M phosphate buffer로 유출시킨 부분이 적혈구 응집효과가 있는 정제된 렉틴이었으므로 수거하여 시료로 하였다.

R. phaseoli의 배양단계와 렉틴의 결합

*R. japonicum*의 배양시기에 있어서 3일을 전후하여 세포막을 구성하는 당류(sugar)의 변화가 있다는 Mort 등¹⁷⁾의 보고에 따라 3일이전과 이후의 *R. phaseoli*를 채취하여 렉틴과의 응집력을 측정한 결과, 재배종과

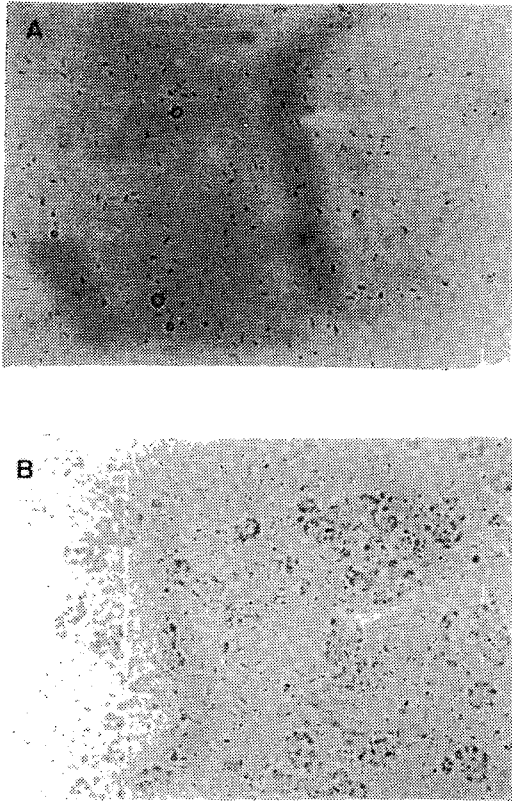


Fig. 1. Microscopic observation for agglutination of *R. phaseoli* by EL-lectins(magnification 500X)(A: Control, B: Agglutination)

Table 1. Semiquantitative test of agglutination between *R. phaseoli* and lectins.

Lectin samples	Culture age in days		
	2	4	6
crude lectin(OD=28)	⦿ ^a	⦿	+
0.2M fraction after DEAE sephadex A50	⦿	+	+

a The symbol + signifies intensity of agglutination in the microscopic field.

type strain 모두 초기배양(2일째)의 *R. phaseoli*가 응집력이 더욱 강했다(Fig. 1, Table 1 참조).

*R. phaseoli*와 정제된 EL-렉틴과의 응집역가

배양 2일째의 *R. phaseoli*를 수확하여 crude렉틴(O.D.=28), DEAE통과 0.2M분획(O.D.=5.2)과 정제된 EL-렉틴(O.D.=5.2)으로 응집력을 시험한 결과는 Table 2와 같았다(이때 시료의 양은 50 μ l로써, 단백질 함량은 Monsigny등¹³⁾의 방법에 따라 spectrophotome-

Table 2. Agglutinating activity of lectins.

Purification steps	Total proteins	Activity(Agglutination titer)
crude lectins	1,680 μ g	16
0.2M fraction after DEAE sephadex A50	300 μ g	4
0.3M fraction after Hydroxyapatite	300 μ g	8

ter를 이용하여 측정되었다).

여기서 알 수 있는 점은 crude렉틴이 rhizobia 20 μ l를 응집시키는데는 200 μ g이상이 필요하고, DEAE 0.2M분획은 75 μ g이상이, 정제된 EL-렉틴은 약 37 μ g 정도에서 결합을 시킬 수 있다는 사실이었다. 따라서 정제된 EL-렉틴이 적혈구를 2 μ g 정도의 렉틴으로도 응집시킬 수 있다는 사실¹¹⁾과 비교해 볼때 rhizobia와의 응집에는 무려 18~19배 이상의 강한 렉틴 농도가 필요하다는 점을 알 수 있었다. 그러나 정확히 응집된 rhizobia세포의 양을 계산하기 위해서는 방사성 동위원소 및 scintillation counter를 이용한 실험이 요망된다고 사료된다.

또 앞으로 더욱 검토해야 할 실험은 EL-렉틴을 분리하여 그들의 subunit인 E-렉틴과 L-렉틴을 얻어서 rhizobia와 응집력을 조사하는 일이다.

한편 EL-렉틴과 다른 *Rhizobium* spp. 즉 *R. japonicum*, *R. trifolii*, *R. lupini*, *R. meliloti* 그리고 *R. leguminosarum* 등과 응집반응을 조사한 결과, *R. leguminosarum*과의 약한 결합을 제외한 다른 균주와는 응집반응이 전혀 없었기 때문에 이전에선 Mort등¹²⁾, Bohloo과 Schmidt²⁾ 그리고 Dazzo와 Hubbel⁷⁾ 등이 rhizobia의 숙주식물에 대한 특이적 감염에는 렉틴의 역할이 있다고 입증한 사실과 거의 부합되는 것으로 간주되며, 그러나 이 결과에서 *R. phaseoli*와 *R. leguminosarum*은 세포막에 있는 렉틴의 수용체에 있어서 유연관계가 있을 것으로 추정되었다.

한편 Chen등⁴⁾과, Law와 Strijdom¹³⁾의 보고에는 rhizobia의 감염에 렉틴이 관계하지 않는다는 결과도 있기 때문에 다른 방법에 의한 광범위한 조사를 시도해 보아야 할 것이다.

당류의 응집저해효과 측정

300 μ g(500 μ l, O.D.=5)의 EL-렉틴에 의한 rhizobia와 응집을 경쟁적으로 저해시키는 단당류의 종류와 저해에 필요한 최소농도를 측정한 결과 Table 3과 같았다.

Table 3. Inhibition of agglutination by monosaccharides.

Monosaccharides	Results ^a	Minimum sugar concentration
mannose	+	6.25mM
galactose	+	6.25mM
N-acetyl-D-galactosamine	+	25mM
fucose	-	
glucose	-	
N-acetyl-D-galactosamine	-	

a The symbol + indicates inhibition and - indicates no inhibition.

이 결과에서 나타난 것처럼 응집반응은 mannose와 galactose에 가장 예민하게 저해되었고, Mort등¹⁷⁾이 *R. japonicum*의 세포막에 N-acetyl-D-galactosamine

이 없는 것으로 보고하였기 때문에, *P. vulgaris*에서 정제된 EL-렉틴은 rhizobia의 세포막중 mannose와 galactose를 포함한 oligosaccharides에 binding site를 갖는 것으로 추정된다. 그러나 여기서 또 생각해 볼수 있는 점은 *R. japonicum*에는 존재하지 않는 N-acetyl-D-galactosamine이, *R. phaseoli*에는 존재할지도 모른다는 가정이다. 이점에 대해선 지속적인 연구가 요망되며, 더우기 모든 *Rhizobium* spp.의 세포막에 존재하는 polysaccharides에 대한 상세한 보고가 없기 때문에 현재로서는 더욱 많은 종류의 당류와 저해반응시험을 해야할 것이며, 특히 Mort등¹⁷⁾의 보고서에서 나타난 *R. japonicum*의 galacturonic acid와 4-O-methyl-galactose에 대해서 응집저해 반응을 조사해 보는 것이 바람직할 것이다.

성장에 따른 부위별 렉틴함량리 결과는 Table 4에 요약되어 있다.

이 결과를 살펴보면 자엽(cotyledon)에서 가장 많았

Table 4. Variation of lectin in culture of *P. vulgaris* with age.

Regions	Culture age		Agglutination titer			
	seed	1-day seedling	3-day seedling	5-day seedling	7-day seedling	9-day seedling
leaf		32	32	32	32	32
cotyledon	2,048	256	128	64	32	32
hypocotyl			4	4	4	4
radicle	32	4				
root			4	8	1	0

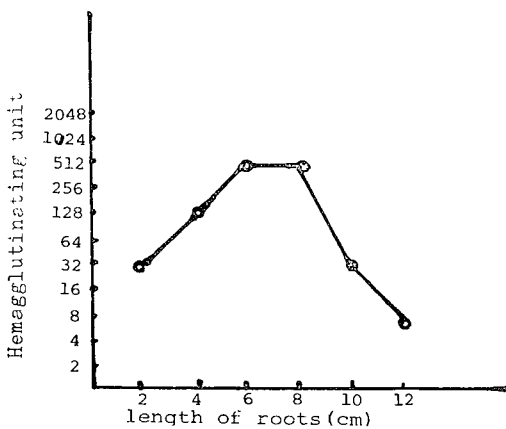


Fig. 2. Variation of agglutinating activity with growth of roots.

던 렉틴은 성장함에 따라 잎과 뿌리로 이동함을 볼수 있으며 가장 흥미있는 부분은 발아후 약 5일경에 렉틴

이 뿌리로 가장 많이 이동되었다는 사실이었다. 또한 뿌리가 자람에 따라 어느정도 렉틴 함량이 변화하는가는 Fig. 2에 나타나 있다(이때 사용된 시료는 똑같은 단백질 함량을 갖고 있도록 (O.D.=1.5) 조정되었다).

그림에서 알수 있듯이, 뿌리의 길이가 6~8cm 자랐을때 가장 렉틴의 함량이 높음을 알 수 있고, 이런 현상은 발아 이후 5일경 전후가 되는 것으로 나타났다. 이 결과는 Gade등⁸⁾이 5일간 수정재배한 것으로서 줄기에서부터 뿌리까지의 길이가 평균 9cm되는 대두의 뿌리에서 렉틴 함량이 높았다는 보고를 한것과 유사하며 또한 이 기간동안에 rhizobia를 유인할 것이라는 추측이 보고된 점으로 보아 매우 흥미있는 사실이었다.

Immunodiffusion

*R. phaseoli*의 항원성과 EL-렉틴과는 precipitin band를 형성하지 않았기 때문에 여기서 렉틴의 단백질과 *R. phaseoli*의 단백질과는 연관성이 없는 것으로 추정하였다. 그러나 배양된 6종의 rhizobia를 *R. phaseoli*

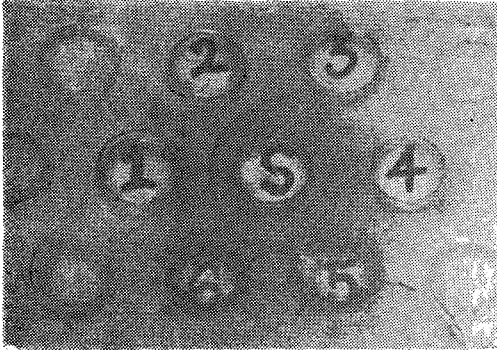


Fig. 3. Immunodiffusion patterns of various *Rhizobium* spp. against antiserum of *R. phaseoli* (Central well: antiserum of *R. phaseoli*, Small wells: 1. *R. phaseoli*, 2. *R. japonicum*, 3. *R. leguminosarum*, 4. *R. trifolii*, 5. *R. lupini*, 6. *R. meliloti*)

항혈청과 immunodiffusion을 실시한 결과 *Rhizobium* spp. 항원들의 차이점과 다른 점을 확인할 수 있었는데 그것은 *R. phaseoli*와 *R. japonicum*의 항원 결정기가 일부 같다는 사실이었다(Fig. 3).

그러나 *R. phaseoli*의 항원이 precipitin band 2개를 나타낸 것에 비해 *R. japonicum*은 1개의 band를 보였고, 그외의 *Rhizobium* spp.와는 건연 침전이 없었기 때문에 이들 *Rhizobium* spp.의 항원 결정기는 절대로 동일하지 않다는 사실이었으며 이는 면역학적으로 균주들의 상이함을 입증한 것이었다.

*R. phaseoli*의 인공감염 및 EL-렉틴의 효과

확실하게 근류 형성이 육안으로 관찰되는 8일째에 *R. phaseoli*만 주입한 강낭콩과 *R. phaseoli*와 렉틴을 동시에 주입한 강낭콩을 조사한 결과, *R. phaseoli*만 주입된 강낭콩은 82%가 뿌리혹기 형성된 반면에, 렉틴이 첨가된 강낭콩은 41%가 뿌리혹기 형성되어 있었다. 이 결과는 외부에서 미리 주어진 렉틴이 경쟁적으로 뿌리의 렉틴과 rhizobia의 결합을 방해한 것으로 해석되었으며 결국 뿌리에서의 렉틴 존재가 토양중의 rhizobia를 유인하는 결정적 도구가 된다는 Dazzo와 Hubbel⁷⁾의 가설을 입증하는 것이었다.

적 요

강낭콩 렉틴과 근류균(*R. phaseoli*)의 결합에 관한 광범위한 실험을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 강낭콩종자의 자엽에서 가장 많은 렉틴은 성장에 따라 뿌리로 이동하였는데 발아후 약 5일경에, 뿌리의 길이가 6~8cm인 것이 가장 렉틴의 함량이 많았다.

2. 근류균의 배양시기에 따라 강낭콩렉틴과의 응집력을 측정한 결과 배양초기가 후기보다 응집력이 높았다.

3. 강낭콩종자에 존재하는 렉틴을 추출·정제하여서 6종 근류균과의 응집력을 측정한 결과 *R. phaseoli*와의 응집이 가장 강했고 이는 렉틴에 대한 특이적 결합, 즉 숙주특이성을 입증하는 것이었다.

4. 단당류에 의한 응집반응의 경쟁적 저해를 시도함으로써 강낭콩렉틴의 근류균에 대한 결합부위가 mannose와 galactose를 포함한 oligosaccharides라는 것을 알수 있었으며 이들의 저해효과에 필요한 당의 최소농도는 6.25mM로서 측정되었다.

5. *R. phaseoli*와 강낭콩 렉틴을 강낭콩 뿌리에 인공감염시켜본 결과 렉틴의 경쟁적 저해가 확인되었으므로 뿌리혹형성에 렉틴의 가교가 관여한다는 가설을 입증할 수 있었다.

6. Immunodiffusion에 의한 *R. phaseoli*의 항원 결정기는 *R. japonicum*과 일부 관련성이 있을뿐 다른 *Rhizobium* spp.과는 전혀 다른 것으로 나타났다.

인 용 문 헌

- Bauer, W.D. 1980. Role of soybean lectin in the soybean *Rhizobium japonicum* symbiosis. Nitrogen Fixation. 2 : 205-213.
- Bohlool, B.B. and E.L. Schmidt, 1974. Lectins: A possible basis for specificity in the *Rhizobium*-Legume root nodule symbiosis. Science. 185 : 269-271.
- Burton, J.C. 1979. *Rhizobium* species in microbial technology. 2nd ed. Vol. 1, Academic Press. 39.
- Chen, A.P., T. Donald and A. Phillips, 1976. Attachment of *Rhizobium* to legume roots as the basis for specific interactions. Plant Physiol. 38 : 83-88.
- Chung, S.R. and K.H. Jeune-Chung. 1981. Isolation, purification and partial characterization of new lectins from Korean plant resources(1): Lectins from Leguminosae. Kor. Biochem. J. 14 : 199-208.
- Dazzo, F.B. and D.H. Hubbel. 1975. Concanavalline A: Lack of correlation between binding to *Rhizobium* and specificity in the *Rhizobium*-Legume symbiosis. Plant Physiol. 43 : 713-717.
- Dazzo, F.B. and D.H. Hubbel. 1975. Cross-active

- antigens and lectins as determinants of symbiotic specificity in the *Rhizobium* clover association. *Appl. Microbiol.* 30 : 1017-1033.
8. Gade, W., M.A. Jack, J.B. Dahl, E.L. Schmidt, and F. Wold. 1981. The isolation and characterization of a root lectin from soybean. *J. Biol. Chem.* 156 : 12905-12910.
 9. Gary, S. and J.B. Winston. 1982. Nitrogen-fixing bacteria: Colonization of the rhizosphere and roots. in *phytopathogenic prokaryotes.* 1 : 225-247.
 10. Hankins, C.N. and L. Shannon. 1978. The physical and enzymatic properties of a phytohemagglutinins of a phytohemagglutinin from beans. *J. Biol. Chem.* 253 : 7791-7797.
 11. Howard, J. and L. Shannon. 1977. A rapid, quantitative, and highly specific assay for carbohydrate-binding proteins. *Anal. Biochem.* 79 : 234-239.
 12. Jeune-Chung, K.H. 1977. Purification des isolectines du haricot rouge. Thèse de Docteur. Université d'Orléans. 1-69.
 13. Law, I.J. and B.W. Strijdom. 1977. Some observations on plant lectins and *Rhizobium* specificity. *Soil Biol. Biochem.* 9 : 79-74.
 14. Liener, I.E. 1976. Phytohemagglutinins. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 27 : 291-319.
 15. Lis, H. and N. Sharon. 1977. Lectins: Their chemistry and application to immunology. in the *Antigens.* Sela, M. ed. Academic Press. 429-529.
 16. Monsigny, M. and K.H. Jeune-Chung. 1978. Separation and biological peroperties of *Phaseolus vulgaris* isolectins. *Biochimie.* 60 : 1315-1322.
 17. Mort, A., J. Wolfgang, and D. Bauer. 1980. Composition of the capsular and extracellular polysaccharides of *Rhizobium japonicum.* *Plant Physiol.* 66 : 158-163.
 18. Ouchterlony, O. and L.A. Nilsson. 1973. Immunodiffusion and immunoelectrophoresis. in *Handbook of Experimental Immunology.* D.M. Weil ed. Blackwell Scientific Publications. 1-39.
 19. Ozawa, T. and M. Yamaguchi. 1981. Increase in cellulase activity in cultured soybean cells caused by *Rhizobium japonicum.* *Plant and Cell Physiol.* 21 : 331-337.
 20. Sharon, N. 1977. Lectins. *Scientific American.* 6 : 108-116.
 21. Skinner, F.A. and D.W. Lovelock. 1979. Identification method for microbiologist. 2nd ed. Academic Press. 54.