

발달중인 人蔘(*Panax ginseng*) 種子 胚乳細胞의 小胞體 및 蛋白顆粒 形成

劉成哲 · 蔡銀珠 · 金字甲
高麗大學校 理科學科 生物學科
(1991년 6월 26일 접수)

Endoplasmic Reticulum and Protein Body Formation in Developing Endosperm Cells of Ginseng Seed

Seong-Cheol Yu, Eun-Joo Chae and Woo-Kap Kim

Department of Biology, Korea University, Seoul 136-701, Korea

(Received June 26, 1991)

Abstract□ This study was carried out to investigate the development of endoplasmic reticulum and the formation of protein body in the endosperm cell during seed formation of *Panax ginseng* C. A. Meyer with electron microscope. In the endosperm cell of early developmental process after pollination, vesicles that contain storage materials produced in rough endoplasmic reticulum incorporated into central vacuole. The central vacuole is gradually subdivided into several small-sized vacuoles and increased in number. Amorphous proteinaceous materials of high electron density are produced in rough endoplasmic reticulum. Rough endoplasmic reticulum increase in number and surround the protein body and vesicles circularly. Spherical proteinaceous granules with limited membrane appeared from the amorphous granules at the peripheral region of the rough endoplasmic reticulum. Gradually, storage materials are accumulated within the vacuole surrounded by spherosomes. Protein bodies are formed by interfusing between vacuoles and vesicles derived from rough endoplasmic reticulum which contained the amorphous protein of high electron density.

Keywords□ *Panax ginseng*, ER, protein body formation, endosperm

서 론

有胚乳 種子의 形成은 수정 직후부터 시작되어 胚의 발달과 더불어 胚乳는 성숙과정을 거치면서 탄수화물, 지질, 단백질 등의 저장물질을 합성하고 축적시킨다.¹⁾ 受精後, 種子內 胚乳細胞에 나타나는 핵, 리보솜, 색소체, 소포체, 미토콘드리아, 골지체, 액포 등은 각기 분화정도에 차이를 보이며, 이들 세포소기관의 출현과 발달 등은 배유세포의 미세구조 변화와 아울러 종자 내의 저장물질의 합성, 축적, 대사기능의 증진 등을 야기시킨다고 보고되었다.²⁾

단백질은 막성 폴리솜에 의해 형성되며,^{3,4)} 종자내의 당단백질은 소포체에서 형성된다고 보고되었다.^{5,6)} 또한, 쌍자엽식물의 종자는 액포내에 저장단백질을 축적시키나, 단자엽식물의 종자는 소포체로부터 유리된 蛋白顆粒(protein body)에 저장단백질을 축적시킨다고 보고하였다.⁶⁾ 그러나, 토마토 같은 쌍자엽식물 종자는 소포체로부터 유래된 단백질립을 형성하지 않으며,⁹⁾ 보리, 밀, 옥수수,^{8,10-14)} 완두 등¹⁵⁻¹⁷⁾의 배유내 저장단백질은 조면소포체에 의해 합성되는 것으로 알려져 왔다.

Matile¹⁸⁾은 종자내 단백질의 합성과 축적에 관한

세 가지 가능성을 제시하였다. 첫째, 조면소포체에서 형성된 소포들은 단백질을 액포내로 이동시키며 단백질 합성장소는 조면소포체이고 축적장소는 액포라고 하였다. 둘째, 蛋白質顆粒은 독자적으로 저장단백질의 합성과 축적능력을 가지는 기관인데 밀의 단백질은 RNA와 리보솜을 막에 함유하고 있어 단백질 합성 능력을 가진다고 하였다. 마지막으로, 조면소포체의 mRNA가 직접 단백질을 합성하는데, 밀과 보리에서 저장단백질은 조면소포체로부터 유리되어 蛋白質顆粒을 형성하고, 옥수수에서는 조면소포체에서 축적된 구형의 단백질군이 조면소포체에 의해 둘러싸인 후, 유리되어 蛋白質顆粒을 형성한다고 하였다.

소포체는 종자내 저장단백질의 합성 및 축적 기능을 수행하는 세포소기관으로 본 연구는 수정후 種子形成에 따른 人蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 胚乳細胞內 소포체의 발달 및 貯藏蛋白質의 저장기관인 蛋白質顆粒의 형성과정을 電子顯微鏡을 이용하여 규명하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

강화도에서 재배하는 4년생 人蔘(*Panax ginseng* C. A. Meyer)을 지상부가 나오기 전인 4월초에 실험실의 화분에 이식 한 후, 人工受精시키거나, 수시로 蔘圃로 출장하여 受精後 種子形成에 따른 胚乳組織을 단계별로 해부현미경 하에서 적출하여 공시재료로 사용하였다.

2. 실험방법

胚乳組織 소편을 phosphate buffered(pH 6.8) 2.5% glutaraldehyde 및 paraformaldehyde-glutaraldehyde 등¹⁹⁾의 용액에서 각각 1시간 전고정 한 후, 동일한 완충액으로 세척시킨 다음, 1% phosphate buffered osmium tetroxide(pH 6.8)에서 1시간 후고정 시켰다. 동일한 완충액으로 세척한 재료는 ethanol-acetone 탈수과정을 거쳐 Epon 혼합액²⁰⁾과 Spurr resin²¹⁾에 포매하였다. 포매된 재료는 LKB-V형 ultramicrotome으로 1 μ m 두께의 절편을 제작하여 methylene blue나 toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰 대상부위를 확인한 다음, 동일한 부위에서 은색절편을 제작하여 copper grid(200 mesh)에 부착시킨 후, 1% uranyl acetate와 lead citrate로 이중염

색하여 透過電子顯微鏡(JEM 100 CX-II, 80 kV)으로 관찰하였다.

결 과

1. 胚乳細胞의 形成

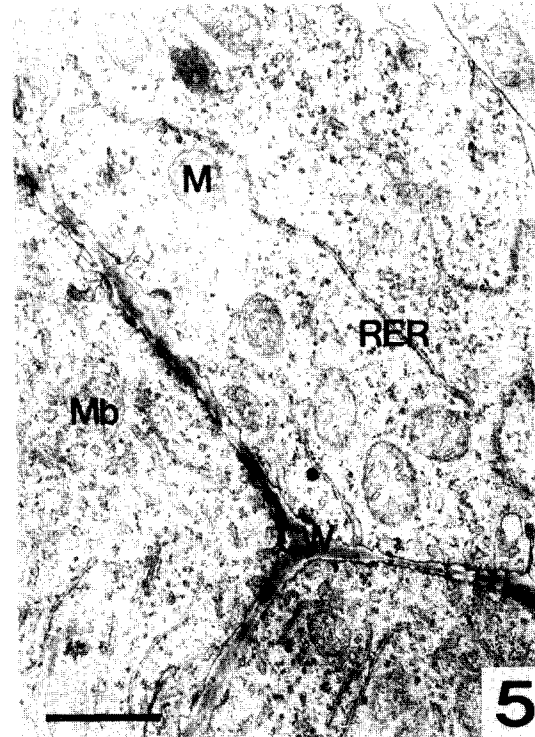
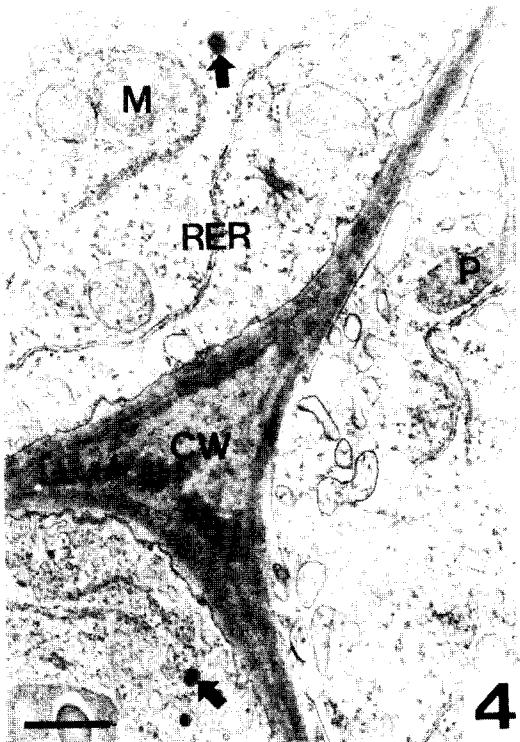
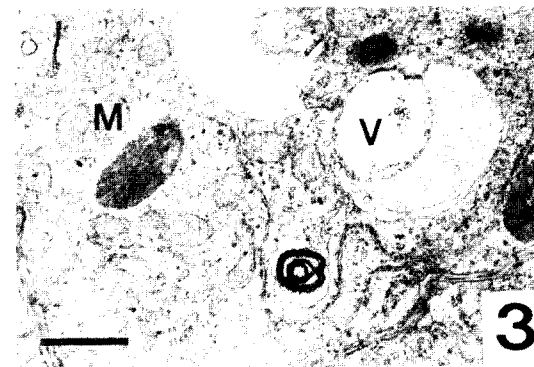
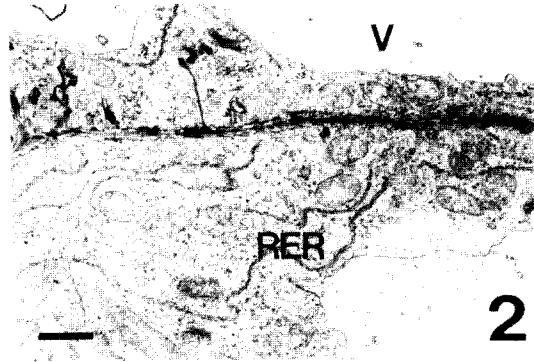
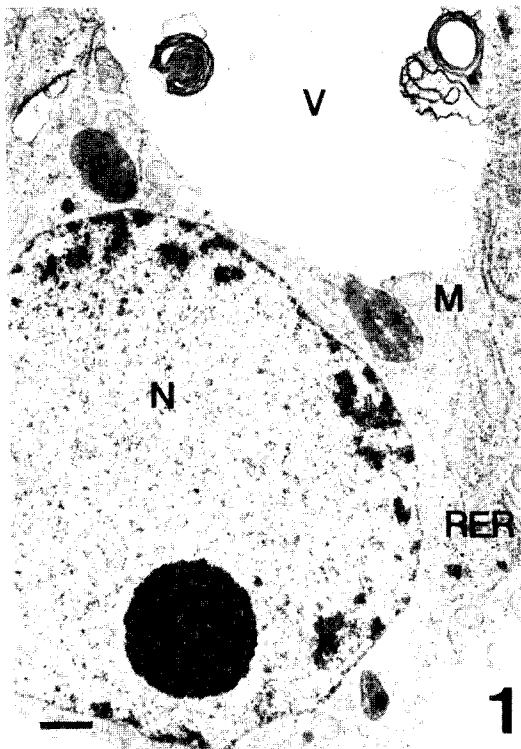
배유형성 초기의 배유세포에는 구형의 뚜렷한 인을 갖는 핵과 미토콘드리아, 색소체, 소포체 등이 관찰되었다(Fig. 1). 중앙액포는 간혹 물질의 유입으로 인해 염색상을 보였고, 동심원상의 막성 구조물도 나타났다(Figs. 1, 2). 배유세포에 나타나는 소포체는 주로 조면소포체로써 세포벽과 인접부위에서 관찰되었다(Fig. 2). 액포는 조면소포체에서 생성되는 소포들의 합입으로 전자밀도가 증가하였다(Fig. 3). 조면소포체 유래의 전자밀도가 높은 소포와 골지 유래의 전자밀도가 낮은 소포들이 관찰되었다(Fig. 4). 배유세포는 미토콘드리아와 조면소포체의 증가와 아울러 폴리솜과 조면소포체 유래의 소포들이 산재하였으며, 점진적으로 세포질은 충실하였다. 또한, 세포벽에는 원형질연락사가 관찰되었으며, 미소체가 조면소포체와 밀접하게 위치하였다(Fig. 5).

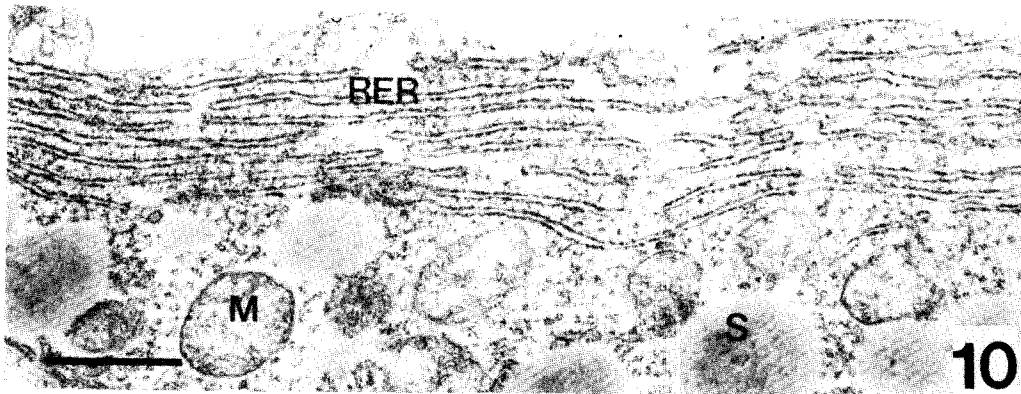
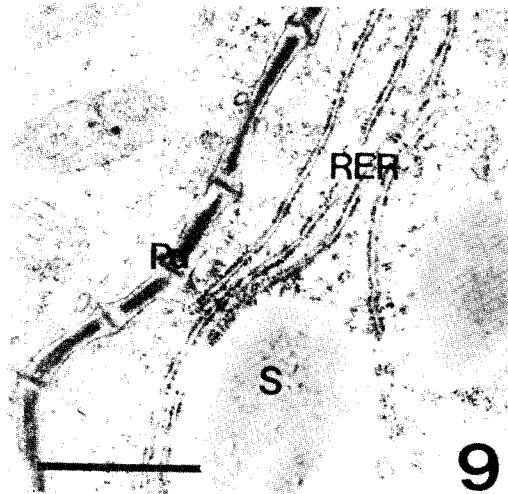
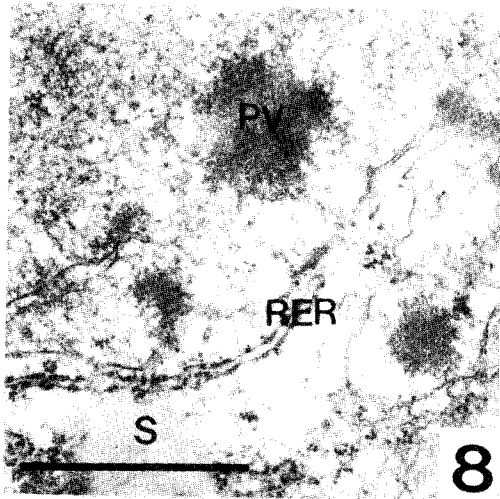
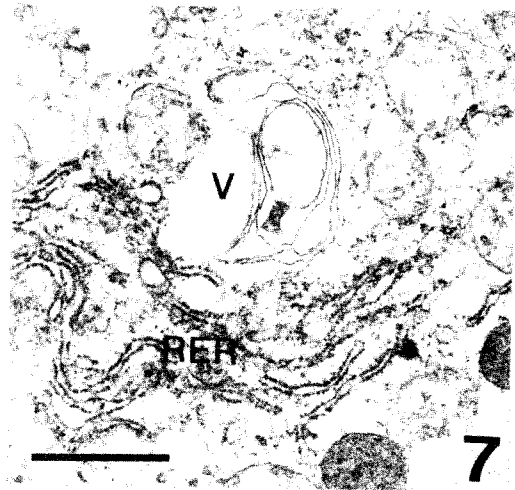
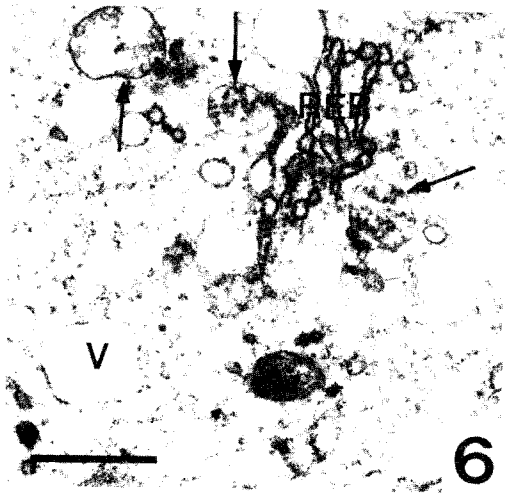
2. 胚乳細胞의 分化

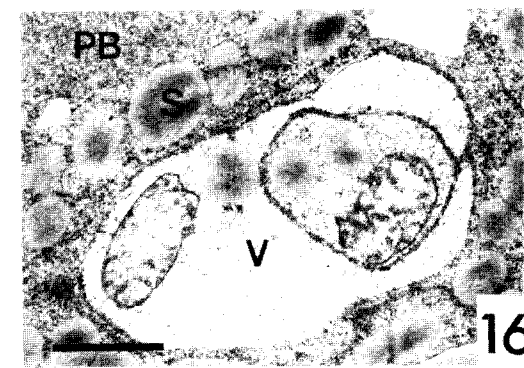
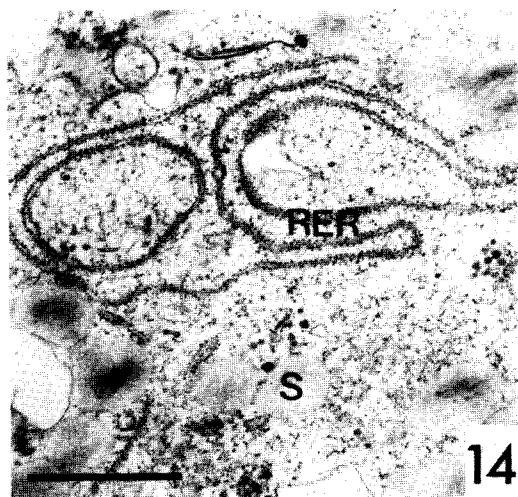
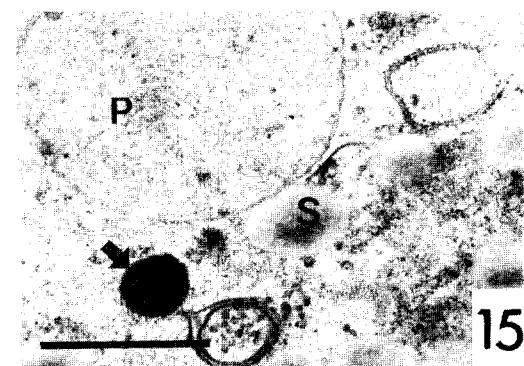
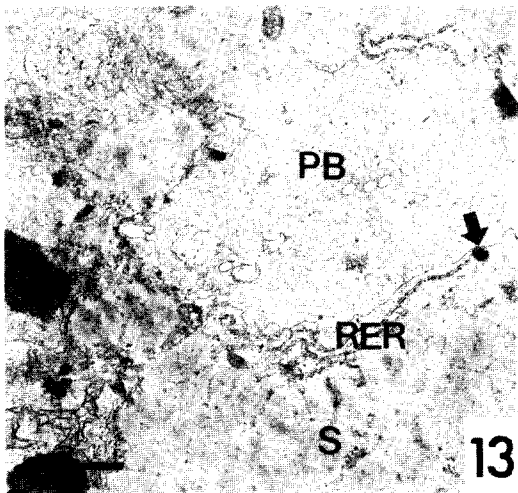
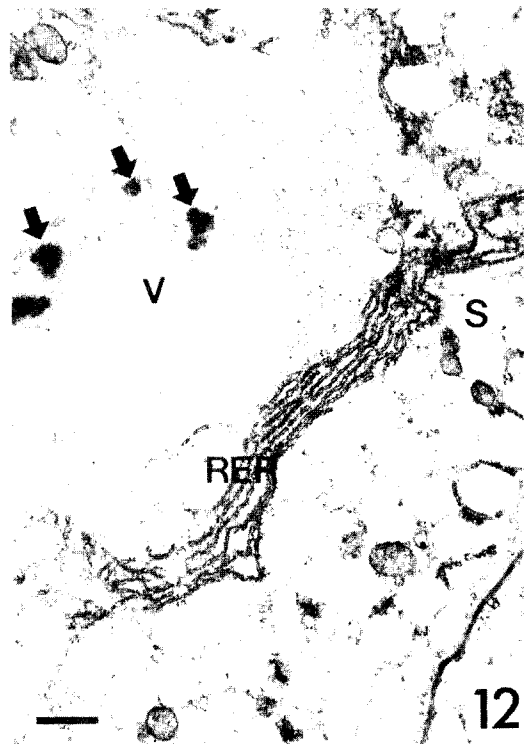
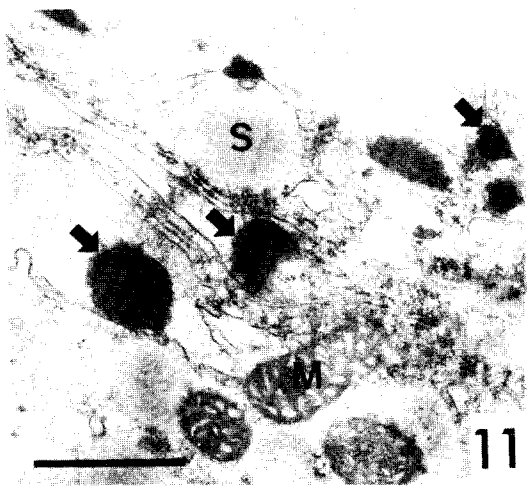
소포체의 증가와 함께 시스터내의 말단이 팽대되어 다수의 소포가 형성되었다. 이들 소포내에는 전자밀도가 높은 과립상의 함유물을 지니고 있는 것과 이를 지니지 않는 것이 존재하였다(Fig. 6). 또한, 발달초기에 나타나는 중앙액포 대신에 좀 더 작은 액포가 증가하였으며(Fig. 6), 폴리솜과 조면소포체는 증가하기 시작하였다(Fig. 7). 전자밀도가 높은 무정형의 단백질성 물질은 조면소포체 유래의 소포 및 액포에 점진적으로 축적되었다(Fig. 8). 스피이러소움은 주로 조면소포체와 함께 세포벽 주변 부위에 위치하였으며, 균일한 염색상을 나타내었고, 세포벽에는 다수의 원형질연락사가 관찰되었다(Fig. 9). 스피이러소움의 발달과 더불어 세포질에는 조면소포체가 급격히 증가하였으며, 이들은 주로 스피이러소움의 주변부에 집중적으로 위치하였다(Fig. 10).

3. 貯藏蛋白質 蓄積 및 蛋白質顆粒 形成

蛋白質顆粒은 조면소포체 유래의 단백질성 액포에 점진적으로 단백질성 물질이 축적되어 형성되었고, 이는 높은 전자밀도를 나타내었다(Fig. 11). 다수의 스피이러소움은 세포벽 가까이에 집중적으로 나타났







으며, 막성구조와 함께 단백질 과립을 지닌 액포는 조면소포체의 주변부에서 발달하고 있었다(Fig. 12). 蛋白顆粒은 전자밀도가 높은 무정형의 단백질성 함유물을 가진 것과 전자밀도가 비교적 낮은 단백질성 기질 부분으로 구분할 수 있었다(Fig. 13). 단백질과립 주변부에 위치한 단백질성 물질을 지닌 조면소포체

유래의 소포는(Fig. 14) 서로 융합하여 단백질성 액포를 형성하였고, 이들의 전자밀도는 단백질과립내 무정형 물질의 그것과 매우 유사하였다(Fig. 15). 또한 조면소포체는 액포내에 위치한 단백질성 함유물 및 스피어리소움과 인접하게 위치하였다(Fig. 16).

Figs. 1-5. Electron micrographs of endosperm cell at the stage of early development.

Fig. 1. Round shaped nucleus (N), mitochondria (M), plastid (P), rough endoplasmic reticulum (RER) and vacuole (V) with myelin-like structure (arrow) are observed in endosperm cell. Bar=1.0 μ m.

Fig. 2. Numerous rough endoplasmic reticulum (RER) and its vesicles near the cell wall appear. V: vacuole, Bar=1.0 μ m.

Fig. 3. Vesicles derived from rough endoplasmic reticulum are located in cytoplasm and are incorporated into the vacuole (V). M: mitochondria, Bar=1.0 μ m.

Fig. 4. Rough endoplasmic reticulum (RER) vesicles, membrane-bounded vesicles and Golgi vesicles appear in cytoplasm. Note the electron dense vesicles (arrows) in cytoplasm. CW: cell wall, M: mitochondria, P: plastid, Bar=1.0 μ m.

Fig. 5. Rough endoplasmic reticulum (RER) and its vesicles are observed in cytoplasm. Microbody (Mb) appears beneath the rough endoplasmic reticulum. CW: cell wall, M: mitochondria, Bar=1.0 μ m.

Figs. 6-10. Electron micrographs of endosperm cell at the stage of cell differentiation.

Fig. 6. Vesicles and Vacuoles (V) produced by end of dilated rough endoplasmic reticulum (RER) are released into the cytosol and then they contain electron dense inclusions (arrows). Bar=1.0 μ m.

Fig. 7. Electron dense granules formed at the edges of the rough endoplasmic reticulum (RER). Vacuolar core is located in vacuole (V). Bar=1.0 μ m.

Fig. 8. Adjacent portion of spherosome (S), protein vacuole (PV) derived from rough endoplasmic reticulum (RER) are observed. Bar=1.0 μ m.

Fig. 9. Free ribosomes appear in cytoplasm. Round shaped, electron dense spherosomes (S) are related to the rough endoplasmic reticulum (RER). Pd: plasmodesmata, Bar=1.0 μ m.

Fig. 10. Rough endoplasmic reticulum (RER) are observed in associated with the mitochondria (M), vacuole and spherosomes (S). Bar=1.0 μ m.

Figs. 11-16. Electron micrographs of endosperm cell at the stage of protein accumulation and protein body formation.

Fig. 11. Endoplasmic reticulum is concerned in amorphous electron dense inclusions (arrows). This inclusions differ from the spherosome (S). M: mitochondria, Bar=1.0 μ m.

Fig. 12. Rough endoplasmic reticulum (RER) is highly dilated and found in associated with the vacuoles (V) and the spherosomes (S). Electron dense inclusions (arrows) appear in vacuoles. Bar=1.0 μ m.

Fig. 13. The protein body (PB) consists of amorphous protein with a high electron density and proteinaceous matrix with a low electron density. Note the electron dense vesicles (arrow) derived from rough endoplasmic reticulum (RER). S: spherosome, Bar=1.0 μ m.

Fig. 14. Electron dense vesicles near the protein body are produced by rough endoplasmic reticulum (RER). S: spherosome, Bar=1.0 μ m.

Fig. 15. Electron dense proteinaceous granule (arrow) and protein containing vesicles are surrounded by rough endoplasmic reticulum. P: plastid, Bar=1.0 μ m.

Fig. 16. Rough endoplasmic reticulum are observed in associated with the protein inclusions, vacuole (V) and spherosomes (S). PB: protein body, Bar=1.0 μ m.

고 찰

Baumgartner 등²²⁾은 수정후, 胚乳細胞에 다양한 세포소기관의 출현양상은 종자내 저장물질의 합성, 축적, 그리고 대사기능의 증진 등에 따른 세포의 기

능변화에 기인하는 것이라고 설명하였다.

종자내의 저장단백질은 폴리리보솜에 의해 형성된다고 보고되었으며,^{11,23)} 폴리리보솜은 종자의 발달과정 동안 가수분해 효소 뿐만 아니라 저장단백질의 합성 및 축적에 관여한다고 보고되었다.²⁴⁾ 목화, 냉

이속, *Petunia* 등에서 리보솜은 조면소포체와 결합되어 있거나, 유리리보솜으로 존재한다고 하였다.²⁾

본 연구에서, 세포소기관들의 발달과 함께 리보솜들은 소포체와 결합되거나 유리리보솜, 혹은 폴리솜 형태로 세포질 전역에 위치하였고, 점차적으로 증가함이 확인되는 등 이들의 보고와 일치하였으며, 배유세포의 발달과 함께 단백질을 포함한 저장물질의 합성이 시작되는 것으로 사료된다.

피마자 胚乳의 인지질은 소포체에 의해 형성되었으며,^{25, 27)} 완두와 강낭콩의 자엽내에 나타나는 지질 소구는 소포체와 골지체 등에서 합성된다고 하였다.²⁸⁾ 그러나 人蔘 種子의 초기 발달과정 동안, 胚乳細胞에 나타나는 소포체는 조면소포체이고, 활면소포체는 나타나지 않는 것으로 보아 스피이러소움은 소포체 유래의 소포에서는 형성되지 않는 것으로 생각된다.

밀, 옥수수, mung bean 등에 있어서 胚乳細胞의 소포체는 胚乳발달 초기에는 원형질막, 핵막 등에 평행하게 위치하지만, 이후 점진적으로 증가하면서 세포질 전역에 나타난다고 하였다.^{2, 10, 29, 30)}

人蔘의 초기 배유 형성단계로부터 단백과립의 형성시기의 胚乳細胞는 조면소포체만을 지니고 있었다. 이들은 세포벽과 액포의 인접부위에 집중적으로 나타났다. 이러한 결과는 밀, 옥수수, 보리 등을 대상으로 수행한 실험결과³¹⁾와 일치하는 것이었다. 또한, 조면소포체는 시스터네의 팽창과 함께 지속적으로 수가 증가하였다. 아울러 조면소포체는 길게 신장되어 胚乳細胞壁의 原型質連絡絲와 細胞壁과 평행하게 위치하는 것으로 보아 이는 소포체가 단백질과 효소를 포함하는 각종 물질들을 細胞壁에 축적시키며, 아울러 세포간의 물질이동에 관여하는 것으로 생각된다.

자기방사법을 이용한 연구^{8, 32)}와 생화학적 연구^{8, 33, 34)}에 의하면, 저장단백질은 조면소포체 유래의 소포에 의해 蛋白顆粒으로 수송된다고 하였는데, 본 연구에서도 이들 조면소포체 유래의 소포들이 배유세포내에 다수 분포하였다. 또한, 전자밀도가 높은 무정형의 단백질성 과립들은 조면소포체에서 형성되어 액포내로 축적된다고 하였는데,^{32, 35)} 본 연구에서도 이와 동일한 결과를 나타내었다. 그러나, 소포체가 종자의 발달후기에 나타난다고 하였던 견해³⁶⁾와는 달랐다.

완두의 子葉,¹⁵⁾ 콩의 子葉,³⁷⁾ 보리,¹²⁾ 쌀,^{38, 39)} 잡두 등^{40, 41)}의 종자내 蛋白顆粒의 막은 전체 혹은 부분적으로 소포체로부터 기원됨을 확인하였다. 또한, 다수

의 세포질성 소포들은 점차 융합해서 커다란 蛋白顆粒을 형성하였고, 蛋白顆粒은 단일막을 가지며 소포체의 확장으로 나타난다고 하였다.^{42, 43)}

본 연구에서 胚乳細胞의 단백과립은 조면소포체 유래의 단백질성 액포에 점진적으로 단백질성 물질이 축적되어 형성되었고, 이는 높은 전자밀도를 나타내었다. 또한, 막성구조와 함께 단백질 과립을 지닌 액포는 조면소포체의 주변부에서 발달하고 있는 것으로 보아 막성구조를 갖는 단백질성 액포가 단백과립으로 나타나는 것으로 생각된다.

배유세포의 조면소포체는 蛋白顆粒의 형성이 거의 완료됨에 따라 감소된다고 하였는데,^{32, 35, 44)} 이러한 견해는 인삼의 胚乳細胞에서도 동일하여 蛋白顆粒 형성의 완료와 함께 조면소포체는 점진적으로 감소하였다. 이러한 현상은 조면소포체가 단백과립의 형성에 직접 관여한다는 것을 보여주는 것이다.

이상의 결과로 미루어보아, 人蔘 種子의 초기 발달과정 동안에 胚乳細胞에 나타나는 소포체는 조면소포체로써 수가 증가하였으며, 蛋白顆粒은 조면소포체 유래의 높은 전자밀도를 갖는 무정형단백질을 지닌 소포들이 액포내에 축적됨으로써 형성되는 것으로 생각된다.

앞으로 이상의 결과와 더불어 種子内 저장물질의 형성에 관한 생화학적 혹은 자기방사법을 이용한 연구가 병행되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

발달 중인 人蔘(*Panax giseng* C.A. Meyer) 種子内 胚乳細胞의 소포체의 발달 및 蛋白顆粒의 형성과정을 확인하고자 電子顯微鏡을 이용하여 관찰하였다.

수정후 胚乳細胞内的 중앙액포는 조면소포체에서 생성되는 저장물질을 갖는 소포들의 합입으로 염색상이 증가하였고, 점진적으로 작은 액포로 분할되어 수가 증가하였다. 전자밀도가 높은 무정형의 단백질성 물질은 조면소포체 유래의 소포에서 형성되었다. 소포체는 수의 증가와 함께 액포내에 위치한 단백질성 과립과 소포들을 둘러싸고 있었다. 또한, 조면소포체의 주변부에는 무정형 내지 한계막을 갖는 구형의 단백질성 과립들이 나타났다. 점진적으로 배유세포내 저장물질은 스피이러소움에 둘러싸인 액포내에 축적되었고, 蛋白顆粒은 높은 전자밀도의 무정형 단백질을

지닌 조면소포체 유래의 소포가 액포와 융합됨으로써 형성되었다.

인용문헌

1. Esau, K.: *Anatomy of Seed Plant*. John, Wiley & Sons, New York, p. 550 (1977).
2. Bhatnager, S.P. and Sawhney, V.: *Int. Rev. Cytology* **73**, 55 (1981).
3. Roshman, J.E. and Lenard, J.: *Science* **195**, 743 (1977).
4. Lodish, H.F. and Small, B.: *J. Cell Biol.* **65**, 51 (1975).
5. Lehle, L., Bowles, D.J. and Tanner, W.: *Plant Sci. Lett.* **11**, 27 (1978).
6. Nagahashi, J. and Beevers, L.: *Plant Physiol.* **61**, 451 (1978).
7. Mellor, R.B., Bowden, L. and Lord, J.M.: *Planta* **146**, 147 (1979).
8. Larkins, B.A. and Hurkman, W.J.: *Plant Physiol.* **62**, 256 (1978).
9. Herman, E.M. and Chrispeels, M.J.: *Cell Biol. Int. Reports* **13**, 37 (1989).
10. Khoo, U. and Wolf, M.J.: *Amer. J. Bot.* **57**, 1042 (1970).
11. Burr, B. and Burr, F.A.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **73**, 515 (1976).
12. Mifflin, B.J. and Shewry, P.R.: *Recent advances in the biochemistry of cereals*, Academic Press, London, p. 239 (1979).
13. Mifflin, B.J., Burgess, S.R. and Shewry, P.R.: *J. Exp. Bot.* **32**, 199 (1981).
14. Burgess, S.R. and Mifflin, B.J.: *J. Exp. Bot.* **36**, 945 (1985).
15. Bain, J.M. and Mercer, F.V.: *Aust. J. Biol. Sci.* **19**, 49 (1966).
16. Craig, S. and Goodchild, D.J.: *Protoplasma* **122**, 91 (1984).
17. Craig, S. and Miller, C.: *Cell Biol. Int. Rep.* **8**, 879 (1984).
18. Martile, P.: *Plant biochemistry*, Academic Press, New York, p. 189 (1976).
19. Karnovsky, M.J.: *J. Cell Biol.* **27**, 137 (1965).
20. Luft, J.H.: *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **9**, 409 (1961).
21. Spurr, A.: *J. Ultrastruc. Res.* **26**, 31 (1969).
22. Baumgartner, B., Tokuyasu, K.T. and Chrispeels, M.J.: *Planta* **150**, 419 (1980).
23. Vigil, E.L.: *J. Cell Biol.* **46**, 435 (1970).
24. Chrispeels, M.J.: *Phil. Tran. R. Soc. London B* **304**, 309 (1984).
25. Moore, T.S. Jr.: *Plant Physiol.* **57**, 383 (1976).
26. Moore, T.S. Jr., Lord, J.M., Kagawa, T. and Beevers, H.: *Plant Physiol.* **52**, 50 (1973).
27. Sexton, J.C. and Moore, T.S.: *Plant Physiol.* **62**, 978 (1978).
28. Mollenhauer, H.H. and Totten, C.: *J. Cell Biol.* **48**, 395 (1971).
29. Jennings, A.C., Morton, R.K. and Palk, B.A.: *Aust. J. Bio. Sci.* **16**, 366 (1963).
30. Harris, N. and Chrispeels, M.J.: *Plant Physiol.* **56**, 292 (1975).
31. Mifflin, B.J., Field, J.M. and Shewry, P.R.: *Seed proteins*, Academic Press, London, p. 335 (1983).
32. Bailey, C.J., Cobb, A. and Boulter, D.: *Planta* **95**, 103 (1970).
33. Bollini, R. and Chrispeels, M.J.: *Planta* **146**, 487 (1979).
34. Pchel, M., Muntz, K., Parthier, B., Aurich, O., Bas-suner, R., Manteufel, R. and Schmidt, P.: *Eur. J. Biochem.* **96**, 321 (1979).
35. Briarty, L.G., Coult, D.A. and Boulter, D.: *J. Exp. Bot.* **20**, 358 (1969).
36. Barlow, K.K., Lee, J.W. and Vesk, M.: *R. Soc. N. Z. Bull.* **12**, 793 (1974).
37. Briarty, L.G.: *Caryologia* **25**(suppl.), 289 (1973).
38. Oparka, N. and Harris, N.: *Planta* **154**, 184 (1982).
39. Krishnan, B.H., Franceschi, V.R. and Okita, T.W.: *Planta* **169**, 471 (1986).
40. Nieu-den, U., Manteuffel, R., Weber, E. and Neumann, D.: *Eur. J. Cell Biol.* **34**, 9 (1984).
41. Tayer, J.R.N., Schussler, L. and Liebonberg, N.W.: *S. Afr. J. Bot.* **51**, 35 (1985).
42. Harris, N.: *Planta* **146**, 63 (1979).
43. Campbell, W.P., Lee, J.W., O'Brien, T.P. and Smart, M.G.: *Aust. J. Plant Physiol.* **8**, 5 (1981).
44. Murray, D.R.: *Seed biology*, Academic Press, London, p. 108 (1984).