

이중 면역금입자 표지법을 이용한 인삼 배유세포내 Vicilin과 Legumin의 합성시기 및 수송방식

이창섭 · 유성철 · 김우갑
고려대학교 이과대학 생물학과
(1995년 9월 25일 접수)

Determination of the Synthetic Time and the Transport Pattern of Vicilin and Legumin in Ginseng Endosperm Cell Using Double Immunogold Labeling

Chang-Seob Lee, Seong-Cheol Yu and Woo-Kap Kim
Department of Biology, Korea University, Seoul 136-701, Korea
(Received September 25, 1995)

Abstract Vicilin and legumin, the storage proteins of seed, were purified from ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) endosperm cells. They were immunized in rabbits, and antibodies were raised respectively. Using these two antibodies, double immunogold labeling of vicilin and legumin was carried out to determine the gap of synthetic time and the transport pattern of vicilin and legumin in the ginseng endosperm cells. Vicilin and legumin were synthesized at the same time at early embryo developmental stage. They were secreted from the Golgi bodies and accumulated into the small vacuoles. As the endosperm cells developed, vicilin and legumin localized in the small vacuoles were gradually transported toward the large central vacuole where they were stored. Protein bodies were derived from the vacuoles filled with proteins and distributed in the endosperm cells of mature red seed. Protein bodies were various in size from 1 to 8 μm in which vicilin and legumin were mixed each other. The number of small particles labeled on the vicilin was greater than that of large particles labeled on the legumin in the protein bodies indicating that the amount of vicilin is higher than that of legumin in the protein bodies.

Key words immunogold, double labeling, ginseng, endosperm cell, vicilin, legumin, protein body.

서 론

식물의 저장 단백질은 발달중인 종자에 축적되었다가 발아시 유식물의 생장에 필요한 질소원과 아미노산을 공급하기 위해 급격히 가수분해된다.¹⁾ 종자의 저장 단백질은 주로 곡류와 콩과식물에서 연구되었는데, 곡류는 저장 조직으로 배유를 갖고 있는 반면 콩과식물은 두 개의 자엽을 갖고 있어 여기에 단백

질을 저장시킨다.^{2, 6)}

Spencer와 Higgins⁷⁾는 콩과식물에 대한 연구로부터 저장 단백질은 종자의 단백질체(protein bodies)에 분포한다고 하였으나 Derbyshire 등⁸⁾은 종자의 저장 단백질이 단백질체 이외에도 분포하는 것을 확인하였다. Miede⁹⁾는 콩과식물의 몇몇 종에서 종자의 전체 단백질 중 80% 이상이 저장 단백질이라 하였으며, 저장 단백질을 용해성에 따라 순수한 물에 용해되는 albumin, 물은 염용액에 용해되는 globulin, 및 알코올에 용해되는 prolamins 등의 세 가지 종류와

본 연구는 1993년도 학술진흥재단 신진연구인력 연구장려금 지원으로 수행되었음.

쉽게 용해되지 않는 glutelin으로 구분하였다. 이러한 저장 단백질들은 종에 따라 서로 다른 조성을 나타내는데, 곡류는 prolamin과 glutelin이 주성분이며 콩과식물은 globulin이 주성분이나 상당량의 albumin도 포함되어 있다.¹⁰⁾ 콩과 식물의 주요 저장 단백질인 globulin은 vicilin 및 legumin으로 구성되어 있는 것으로 밝혀졌다.^{8,9)}

이상에서와 같이 여러 식물 종자의 저장 단백질에 관한 많은 연구가 이루어져 왔으나, 인삼 배유세포 내의 단백질체에 대하여는 주로 미세구조적 측면에서 연구되었을 뿐¹¹⁻¹⁴⁾ 저장 단백질의 성분에 관해서는 전혀 연구가 이루어지지 않았다. 최근에 와서야 비로소 몇몇 저장 단백질의 성분에 대한 연구가 이루어지기 시작하였는데, Lee 등¹⁵⁾과 Lee와 Kim¹⁶⁾은 인삼 배유세포에서 vicilin과 legumin을 분리 정제하여 각각의 생리적 특성을 밝혀내었고, vicilin과 legumin에 대한 각각의 면역세포화학적 연구를 통하여 배유세포에서 vicilin과 legumin의 분포를 연구한 바 있다.

본 연구에서는 vicilin과 legumin에 대한 항체와 금입자가 결합된 이차항체를 이용한 이중 면역금입자 표지법을 적용하여 인삼 배발생과정에서 배유세포의 vicilin과 legumin이 각각 다른 시기에 생합성되어 독립적으로 수송되는지 아니면 같은 시기에 함께 생합성되어 서로 혼합된 상태로 함께 액포를 향하여 수송되는지 여부와 아울러 종자가 홍숙되었을 때 배유세포에서 vicilin과 legumin의 분포상태를 규명하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

단백질 추출용 재료는 자경종의 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 종자에서 종피를 제거하고 해부 현미경 하에서 배 부분을 잘라 낸 후 배유만을 냉동 보관하면서 vicilin과 legumin의 분리정제에 사용하였다. 현미경 관찰재료는 4년생 또는 5년생 자경종의 인삼종자를 개화 이후 홍숙되어 채종할 때까지 수시로 채집하여 종피를 제거한 후 해부 현미경 하에서 배 유조직편을 채취하였다.

2. Vicilin과 Legumin 분리 정제 및 항체형성

강낭콩(*Phaseolus vulgaris* L.)에서 vicilin을 추출한 방법¹⁷⁾과 완두(*Pisum sativum* L.)에서 legumin을 추출한 방법¹⁸⁾을 변형하여 인삼 홍숙종자의 배유조직에서 vicilin과 legumin을 분리 정제하였다. 즉, sodium borate($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, pH 9.0)로 추출한 염용해성 globulin을 sphadex G-50 컬럼과 DEAE-셀룰로스 컬럼을 사용하여 vicilin과 legumin을 각각 분리 정제하였고, 이를 각각의 도기에 주사하여 항체를 만들었고 DEAE Affi-Gel Blue affinity 칼럼(Bio-Rad)으로 IgG를 분리하여 western blotting으로 항체형성을 확인한 후 vicilin과 legumin에 대한 면역세포화학적인 연구에 사용하였다.^{15,16)}

3. 미세 구조 관찰 방법

종자에서 적출한 배유조직 소편을 Craig와 Miller⁴⁾의 방법에 따라 3% glutaraldehyde(25 mM sodium phosphate buffer, pH 7.1)에 2시간 단일고정하거나 glutaraldehyde 및 1% osmium tetroxide(1시간)로 이중고정하고, sodium phosphate buffer(25 mM, pH 7.1)로 20분 간격으로 3회 세척하여 에탄올-아세톤 농도상승 순으로 탈수한 다음, Spurr 포매액으로 포매하였다. 포매한 블럭을 LKB-V형 ultramicrotome으로 잘라 60 nm 두께의 은색 절편을 취하여 uranyl acetate와 lead nitrate로 염색하여 JOEL JEM 100 CX-II 투과 전자현미경(80 kV)으로 미세구조를 관찰하였다.

4. 면역세포화학적 방법

포매한 블럭을 잘라 은색절편을 취하여 막을 입히지 않은 그리드에 부착시켜 Duranti 등¹⁹⁾의 방법으로 이중면역금입자 표지법을 수행하였다. 즉, 절편이 부착된 그리드의 앞면이 아래쪽을 향하게 하여 20 μl 의 PBST-BSA(15 mM, pH 7.1, 500 mM NaCl, 0.2% Tween-20, 1% bovine serum albumin) 위에 20분 동안 띄워 blocking시키고, 20 μl 의 항 vicilin 항체(희석비율 1:100)에서 30~40분 동안 반응시킨 후 PBST에 띄워 세척하였다. 이를 20 nm의 금입자가 결합된 protein A-gold(Polyscience, 희석비율 1:20)에서 30분 동안 반응시킨 다음 PBST와 증류수로 세척하였다. 그 후 그리드를 뒤집어서 절편의 뒷면이 아래쪽을 향하게 하여 20 μl 의 PBST-BSA 위에 20분 동안 띄워 blocking시키고, 20 μl 의 항 legumin 항체(희석비율 1:100)에서 30~40분 동안 반응시킨 후

PBST에 띄워 세척하였다. 이를 30 nm의 금입자가 결합된 goat anti-rabbit antibody(GAR-G30; Janssen Pharmaceuticals, 희석비율 1:20)에서 30분 동안 반응시킨 다음 PBST와 증류수로 세척하였다. 그리고 uranyl acetate로 20분 동안 단일염색하여 투과 전자 현미경으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

식물 종자의 저장 단백질은 종에 따라 상이한 조성을 하고 있다. 몇몇 예외적인 경우가 있으나 콩과 식물과 기타 쌍자엽식물의 주요 저장 단백질은 globulin이고, 곡류 등의 단자엽식물의 주요 저장 단백질은 prolamin과 glutelin이나 예외적으로 귀리는 단자엽 식물이지만 그 주요 저장 단백질은 globulin이다.¹⁾ 저장 단백질 중 globulin은 vicilin 및 legumin으로 구성되어 있으며 주로 콩과식물에서 연구되어 왔다.^{5, 8, 9, 20)} 저장 globulin의 분자량은 식물의 종이나 연구자에 따라 차이가 있는데, 일반적으로 legumin의 분자량 범위는 320~395 kDa이며 vicilin은 150~220 kDa이다.¹⁰⁾

완두(*Pisum sativum* L.)의 vicilin은 분자량이 180,000~200,000으로 11가지의 다양한 소단위로 구성되어 있다.^{21, 23)} 또한 야생 콩(*Cytisus scoparius* L(Link.))의 vicilin은 5가지의 소단위로 구성되어 있으며 분자량이 각각 55,000, 52,000, 47,000, 45,000, 및 13,000이다.²⁴⁾ 강낭콩(*Phaseolus vulgaris*)의 vicilin은 glycosylated된 3개의 서로 다른 소단위로 구성되어 있으며 분자량은 각각 52,000, 49,000, 및 46,000으로 나타났다.¹⁷⁾ 이 단백질을 vicilin이라고 하기 이전에는 glycoprotein II²⁵⁾ 또는 globulin G1²⁶⁾이라 하였는데 Bollini와 Chrispeels¹⁷⁾는 이 단백질들이 vicilin과 동일하다고 하였다.

인삼 종자의 배유에는 globulin이 저장 단백질의 대부분을 차지하였고 vicilin 및 legumin이 그 주요 성분이었다. 인삼 종자의 vicilin은 두 가지 소단위로 구성되어 있으며 각각의 분자량은 55,000과 44,000으로 나타났으며, 55,000의 소단위가 44,000의 소단위보다 높은 비율로 존재하였다.¹⁵⁾ 이러한 결과는 콩과 식물의 완두나 강낭콩의 경우와는 다소 차이가 있었는데, 이로부터 vicilin은 종에 따라 구성 소단위의

종류와 분자량이 조금씩 다르다는 것을 알 수 있다.

Legumin에서도 또한 vicilin의 경우와 마찬가지로 식물의 종과 연구자에 따라 구성 소단위의 종류와 분자량에 있어 다소 차이가 나타난다. 완두(*Pisum sativum* L.)의 경우 Higgins와 Spencer²⁷⁾는 legumin이 분자량 38,500과 20,000의 두 가지 주요 소단위로 구성되어 있다고 하였으나, Casey¹⁸⁾에 의하면 완두의 legumin 구성 소단위는 완두의 종류에 따라 다양하게 구성되어 있으며, 주요 구성 소단위의 분자량은 대략 40,000과 20,000이지만 그 이외에 90,000, 70,000, 45,000, 및 30,000의 소단위도 소량 존재한다고 하였다. 한편, 야생 콩(*Cytisus scoparius*)의 경우 legumin이 분자량 62, 52, 51, 23, 22 kDa의 소단위로 주로 구성되어 있으나, 그 이외에 90, 68, 36, 34 kDa의 소단위도 소량 포함되어 있었다.²⁰⁾

인삼 종자의 legumin은 두 가지의 소단위로 구성되어 있고 각 소단위의 분자량은 33,000 및 25,000이었으며, 두 구성 소단위가 거의 같은 비율로 존재하는 것으로 나타났다.¹⁶⁾ 이러한 결과는 legumin이 두 가지 소단위로 구성되어 있다는 점에서 완두의 경우와 일치하였으나 분자량에 있어서는 다소 차이가 있었다.^{18, 27)}

인삼 배유세포의 vicilin 및 legumin에 대하여 크기가 다른 금입자를 동시에 표지시키는 이중 면역금입자 표지법을 적용하였을 때, 골지체와 인접한 전차밀도가 높은 무징형의 물질에 vicilin에 대한 20 nm의 작은 금입자와 legumin에 대한 30 nm의 큰 금입자가 표지됨으로써 이 물질이 vicilin 및 legumin을 포함하고 있는 단백질로 밝혀졌다(Figs. 1, 2). 이것은 vicilin과 legumin이 골지장치에서 공정과정을 거친 다음 함께 분비되어 나온다는 것을 의미하며 vicilin과 legumin이 같은 시기에 합성되었음을 나타내 준다. Vicilin과 legumin이 각각 다른 시기에 합성되어 어느 한 단백질이 먼저 골지장치를 통과하게 된다면 그에 해당하는 크기의 금입자들로만 표지되고 다른 단백질에 해당하는 크기의 금입자들은 전혀 표지되지 않게 될 것이다.

Lee 등¹⁵⁾은 인삼의 배유세포 발달초기에 vicilin이 조면소포체에 인접하여 분포하는 것을 관찰하고 조면소포체가 vicilin의 합성에 관여한다고 하였고, Lee와 Kim¹⁶⁾은 legumin 역시 조면소포체에 인접하여 분포하는 것을 관찰함으로써 조면소포체가 legumin의

합성에도 관여한다고 하여 인삼 배유세포의 발달 초기에 조면소포체에 부착된 폴리 리보솜에서 vicilin과 legumin이 합성됨을 시사하였다. 따라서 vicilin과 legumin은 같은 시기에 합성되어 골지장치에서 함께 분비된다는 위의 결과와 잘 일치하게 된다. Craig와 Goodchild²⁶⁾ 및 Craig와 Miller⁴⁾ 등은 완두(*Pisum sativum* L.)에 vicilin이 골지 시스터나와 전자밀도가 높은 골지소낭에도 분포하며, 이러한 골지 소낭을 통하여 액포로 수송되어 축적된다고 하였다. Lending 등²⁹⁾은 *Avena sativa*에서 비록 골지장치가 드물게 관찰된다 할지라도 이들이 단백질을 공정하는 역할을 배제할 수 없다고 함으로써 골지 장치의 역할을 중요시하였다. Nieden 등³⁰⁾은 면역세포화학적 연구로부터 *Vicia fava* 종자의 주요 저장 globulin인 vicilin 및 legumin이 조면소포체로부터 단백질체의 저장장소까지 수송되는 과정에 골지장치를 경유한다는 사실을 종래의 미세구조적 연구로는 확인하기 어려운 부분이었으나 면역세포학적 연구를 통하여 분명하게 확인할 수 있었다.

한편 배가 구형을 이루는 배발생 초기에 배유세포도 함께 발달하기 시작하며 이때 시토플의 작은 액포에 전자밀도가 높은 단백질이 축적되기 시작하며 여기에 크기가 다른 두 가지 금입자가 모두 표지됨으로써 vicilin 및 legumin이 함께 분포하는 것으로 나타났다 (Figs. 3, 4). Millerd와 Spencer³¹⁾는 완두가 발달하는 동안 자엽에서 vicilin이 legumin보다 먼저 검출된다고 하였으나 Boulter 등³²⁾은 완두에서 vicilin과 legumin이 액포에 함께 축적된다고 하여 견해차이를 보였다. 인삼의 경우에는 이중 면역금입자 표지법을 수행한 결과 Boulter 등³²⁾의 견해와 같이 vicilin 및 legumin은 시간적인 차이없이 동시에 합성되며 액포에 함께 축적되는 것으로 나타났다.

배유세포가 발달함에 따라 vicilin과 legumin은 핵 주변의 중앙액포에 나타나기 시작하며 그 양도 점차 증가하였고 중앙액포에 서로 혼합된 상태로 존재하였다(Figs. 5~7). 이로부터 배유세포가 발달함에 따라 시토플의 작은 액포에 분포하고 있던 vicilin 및 legumin이 중앙액포로 함께 수송되어 축적됨을 알 수 있다.

채종 직후의 인삼 홍숙종자의 배는 심장형으로서

이 시기의 배유세포에는 액포에 단백질이 충분하게 됨으로써 형성된 단백질체가 비로소 나타나며 단백질체에는 vicilin과 legumin이 고루 혼합되어 분포하는 것으로 확인되었다(Fig. 8). 인삼 종자의 배가 구형을 이루고 있는 시기에 vicilin과 legumin이 배유세포의 조면소포체와 골지체 주변, 액포, 및 중앙액포에 분포하고 있던 경우와는 달리, 배가 심장형을 이루는 홍숙종자에서는 vicilin과 legumin이 배유세포의 전역에 위치한 커다란 단백질체에 분포하고 있어 Higgins와 Spencer²⁷⁾, Lee 등¹⁵⁾, 및 Lee와 Kim¹⁶⁾의 견해와 일치하였다. 또한 인삼 배유세포의 vicilin 및 legumin은 단백질체에 고루 혼합된 상태로 분포하는 것으로 나타나 Citharel과 Citharel²⁴⁾의 견해와 일치하였다.

홍숙직전의 인삼 배유세포의 중앙액포에는 무정형의 단백질들이 증가하면서 무질서하게 분포하지만 종자가 홍숙되어감에 따라 여러 개의 그룹을 형성하면서 점차 구형을 이루게 되며, 종자가 완전히 홍숙되었을 때 비로소 구형의 단백질체를 이루게 된다.¹⁶⁾ 인삼 홍숙종자의 단백질체는 주로 구형 또는 타원형이며 1~8 μm 의 다양한 크기로서 핵 주변에 고루 분포되어 있으며 지질을 함유한 스피어리소움에 둘러싸여 있는 것으로 관찰되어 Yu와 Kim³³⁾의 결과와 일치하였다.

한편, 인삼 배유세포의 단백질체에 분포하는 vicilin과 legumin에 대하여 표지된 각각의 금입자 수를 측정해보면 vicilin에 대한 20 nm의 금입자가 legumin에 대한 30 nm의 금입자보다 훨씬 더 많이 표지되어, 인삼의 배유세포에는 vicilin이 legumin보다 훨씬 더 많은 비율로 분포되어 있는 것으로 나타났다(Fig. 8). 이것은 vicilin과 legumin을 분리 정제하는 과정에서 나타난 결과¹⁵⁾와 일치하였다.

요 약

인삼 배유세포의 저장 단백질인 vicilin과 legumin을 정제하여 토끼에 각각 주사하여 항체를 제조하였다. 이 두 항체를 이용한 이중 면역금입자 표지법으로 인삼 배유세포내 vicilin과 legumin의 합성시기적 차이 및 수송 양상을 조사하였다. 배발생 초기에 vicilin과 legumin은 동시에 합성되었다. Vicilin과 legu-

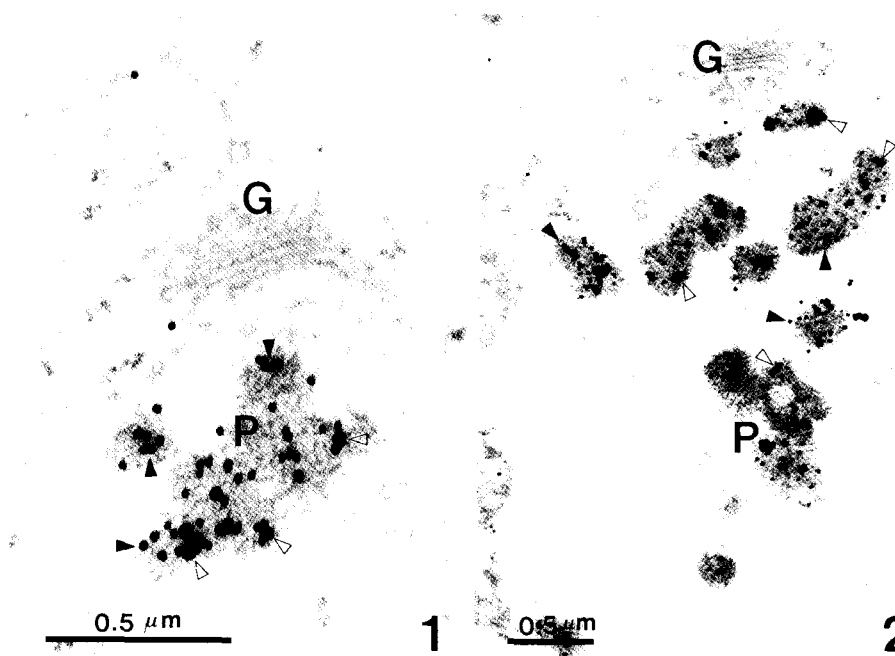
min은 골지장치에서 함께 분비된 다음 작은 액포에 축적되었다. 배유세포가 발달함에 따라 작은 액포에 분포하고 있던 vicilin과 legumin은 점차 중앙액포로 수송되어 축적되었다. 홍숙종자의 배유세포에 분포하는 단백질체는 단백질이 충만된 액포에서 유래되었다. 단백질체는 1~8 μm 의 다양한 크기로서 그 내부에 vicilin과 legumin이 혼합된 상태로 분포하고 있었다. vicilin에 표지된 작은 금입자의 수는 legumin에 표지된 큰 금입자의 수보다 훨씬 많아 인삼의 배유세포에 vicilin이 legumin보다 훨씬 더 많이 분포되어 있음을 나타내었다.

인 용 문 헌

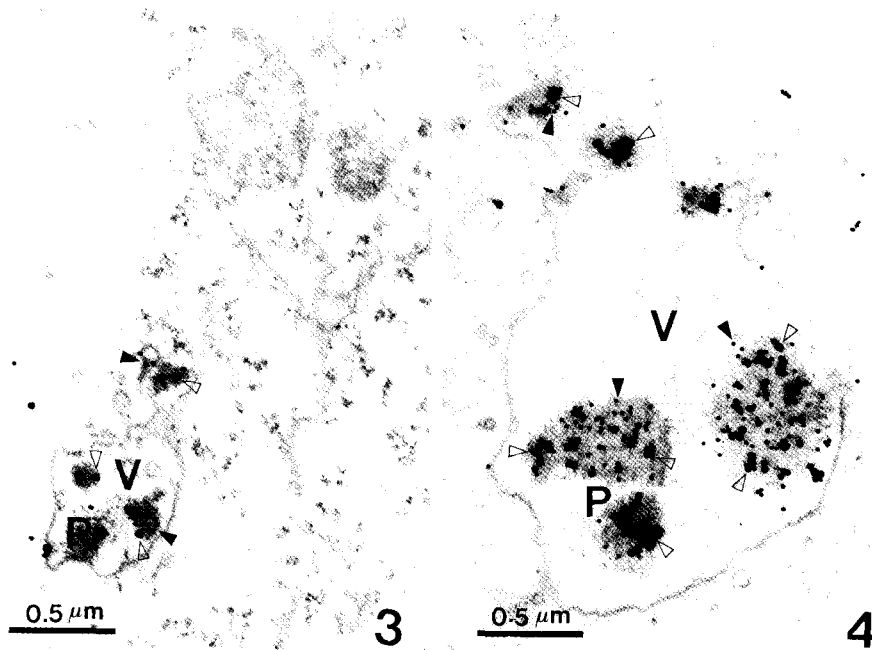
- Higgins, T. J. V. : *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **35**, 191 (1984).
- Bollini, R. and Chrispeels, M. J. : *Planta* **146**, 487 (1979).
- Craig, S. and Goodchild, D. J. : *Protoplasma* **122**, 91 (1984).
- Craig, S. and Miller, C. : *Cell Biol. Int. Repts.*, **8**, 879 (1984).
- Harris, N., Grindley, H., Mulchrone, J. and Croy, P. R. D. : *Cell Biol. Int. Repts.*, **13**, 23 (1989).
- Robinson, D. G., Balusek, K. and Freundt, H. : *Protoplasma* **150**, 79 (1989).
- Spencer, D. and Higgins, T. J. V. : *Curr. Adv. Plant Sci.*, **34**, 1 (1979).
- Derbyshire, E., Wright, D. J. and Boulter, D. : *Phytochem.*, **15**, 3 (1976).
- Miege, M. N. : *Encyclopaedia of Plant Physiology*, Vol. 4A, Springer-Verlag, New York, p. 291 (1982).
- Larkins, B. A. : *Biochemistry of Plants*, Vol. 6, Academic Press, New York, p. 449 (1981).
- Kim, W. K. : *Korean J. Electron Microscopy* **14**, 15 (1984).
- Kim, W. K., Park, H. D., Kim, E. S. and Han, S. S. : *Korean J. Electron Microscopy* **9**, 57 (1979).
- Yu, S. C., Jeong, B. K. and Kim, W. K. : *Korean J. Electron Microscopy* **18**, 141 (1988).
- Yu, S. C., Lee, C. S. and Kim, W. K. : *Korean J. Bot.*, **35**, 53 (1992).
- Lee, C. S., Yu, S. C. and Kim, W. K. : *Kor. J. Bot.*, **35**, 99 (1992).
- Lee, C. S. and Kim, W. K. : *Kor. J. Electron Microscopy* **25**, 15 (1995).
- Bollini, R. and Chrispeels, M. J. : *Planta* **142**, 291 (1978).
- Casey, R. : *Biochem. J.*, **177**, 509 (1979).
- Duranti, M., Faoro, F. and Harris, N. : *Protoplasma* **161**, 104 (1991).
- Danielsson, C. E. : *Biochem. J.*, **44**, 387 (1949).
- Davey, R. A. and Dudman, W. F. : *Aust. J. Plant Physiol.*, **6**, 435 (1979).
- Jones, J. B., Spencer, D., Higgins, T. J. V. and Millerd, A. : *Planta* **153**, 201 (1981).
- Thomson, J. A., Schroeder, H. E. and Dudman, W. F. : *Aust. J. Plant Physiol.*, **5**, 263 (1978).
- Citharel, L. and Citharel, J. : *Planta* **166**, 39 (1985).
- Pusztai, A. and Watt, W. B. : *Biochim. Biophys. Acta* **207**, 413 (1970).
- McLeester, R. C., Hall, T. C., Sun, S. M. and Bliss, F. A. : *Phytochem.*, **2**, 85 (1973).
- Higgins, T. J. V. and Spencer, D. : *Plant Physiol.*, **60**, 655 (1977).
- Craig, S. and Goodchild, D. J. : *Protoplasma* **122**, 35 (1984).
- Lending, C. R., Chesnut, R. S., Shaw, K. L. and Larkins, B. A. : *Planta* **178**, 315 (1989).
- Nieden, U. zur., Manteuffel, R., Weber, E. and Neuman, D. : *Eur. J. Cell Biol.*, **34**, 9 (1984).
- Millerd, A. and Spencer, D. : *Aust. J. Plant Physiol.*, **1**, 331 (1974).
- Boulter, D., Evans, I. M., Ellis, J. R., Shirsat, A. H., Gatehouse, J. A. and Croy, R. R. D. : *Plant Physiol. Biochem.*, **25**, 283 (1987).
- Yu, S. C. and Kim, W. K. : *Korean J. Bot.*, **35**, 45 (1992).

Explanation of Figures

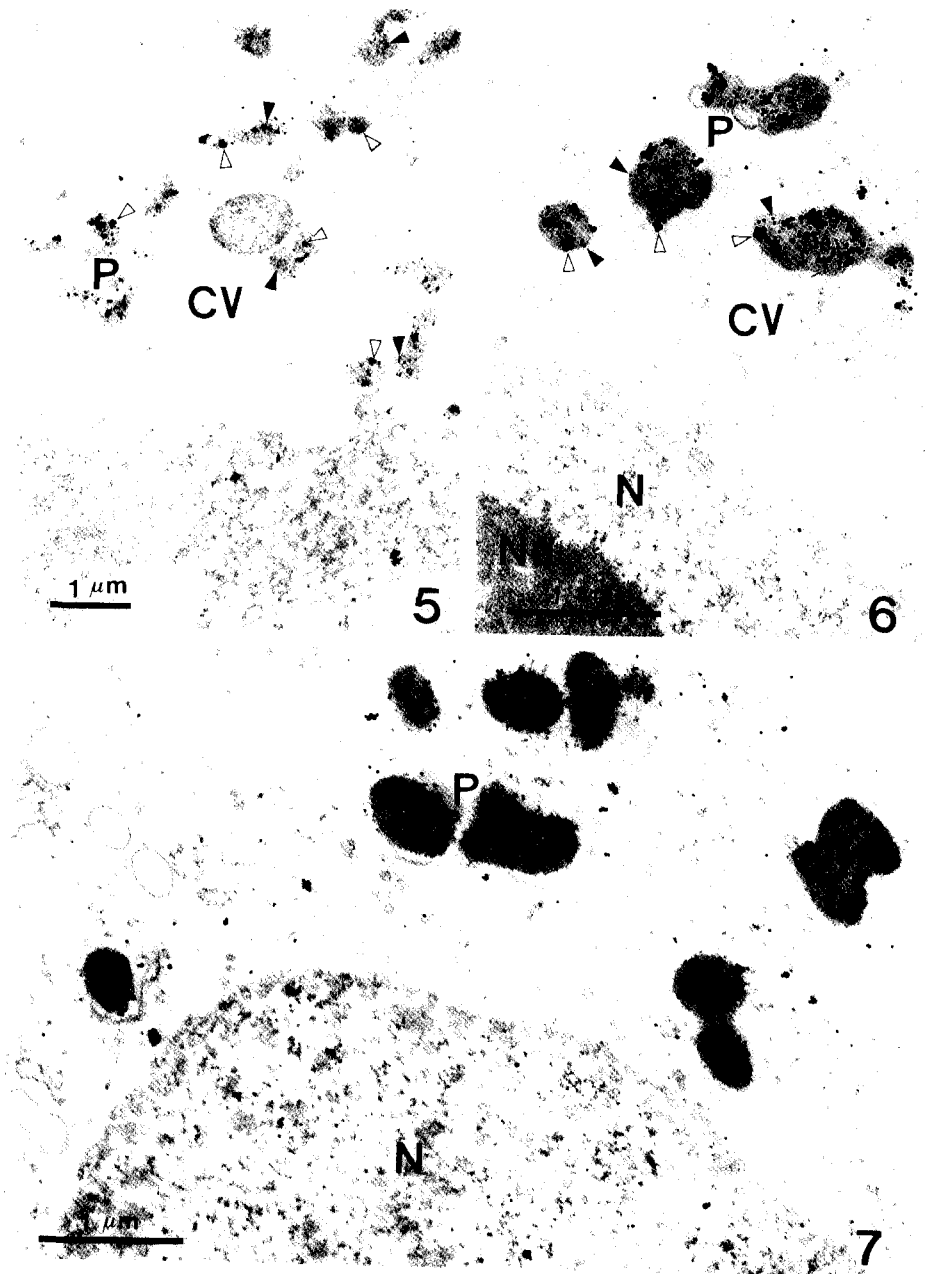
Figs. 1~8. Double immunoelectronmicrographs of vicilin and legumin in ginseng endosperm cells. Two kinds of gold particles were used, small gold particles (20 nm, black arrow head) were labeled on the vicilin and large ones (30 nm, white arrow head) were labeled on the legumin.



Figs. 1~2. Different sizes of gold particles were labeled on the protein lumps in the vicinity of the Golgi bodies. 20 nm-gold particles to the vicilin and 30 nm-gold particles to the legumin were decorated together on the protein lumps. Bar=0.5 μm.



Figs. 3~4. Vicilin and legumin were deposited in the small vacuoles in which they aggregated together. Two kinds of gold particles were labeled on the small protein lumps in small vacuoles. Bar=0.5 μm.



Figs. 5~7. Several protein lumps were found in the large central vacuoles near nucleus. Vicilin and legumin were localized together on these protein lumps. Bar=1 μm.

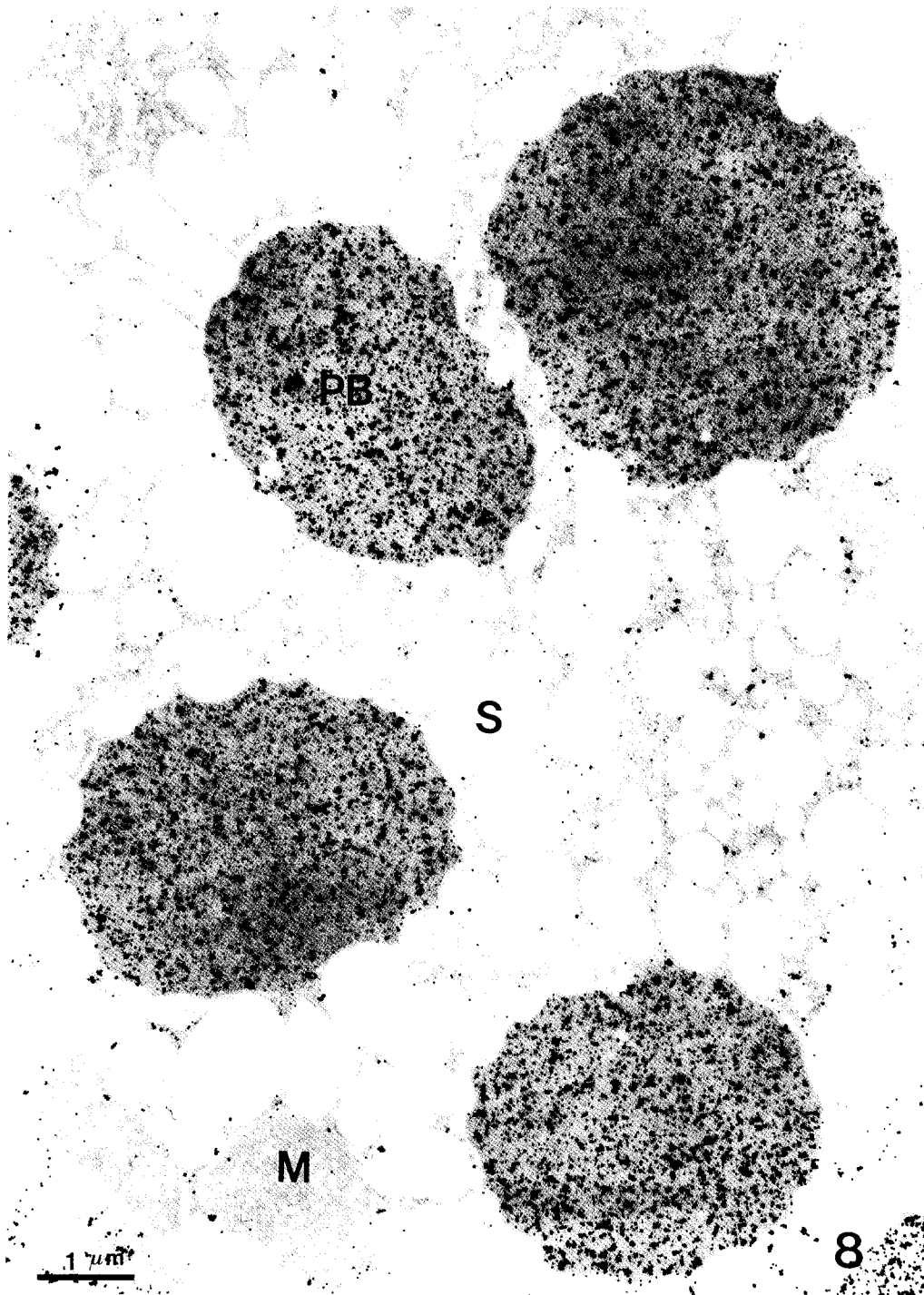


Fig. 8. Large spherical protein bodies were formed in mature endosperm cell and finally vicilin and legumin were localized in the protein bodies with mixed form. Mitochondria and spherosomes were observed but the ER and the Golgi body were not found. The number of small particles was greater than that of large particles labeled on the protein bodies. Bar=1 μm.