

# 大豆發芽中の 各器官蛋白質 및 子葉 RNA 變動에 關한 研究

裴 孝 元

中中專賣技術研究所

劉 太 鍾

忠 北 大 學

(1967年 3月 22日 受理)

Studies on changes of protein contents in various organs of  
the germinating soybean and of RNA contents of cotyledon of it

H.W. Bae

Central Research Institute of Korean monopoly

T.J. Yu

Chung Buk College

## Summary

Changes in the protein contents of various organs of the germinating soy bean as well as the effect of X-irradiation on the RNA content of cotyledon of it were investigated.

1) The protein content of germinating organs other than cotyledon increase while that of cotyledon decreases as germination proceeds, which is indicative of the fact that the former organs are anabolic and the latter catabolic in nature with regard to their protein metabolism during germination.

2) The cotyledon RNA content of soybean decreases until the 6th day after germination initiated, and increases thereafter. When the seeds are exposed to 300 r X-irradiation, these tendencies seem to be accelerated, but when exposed to 600 r and 900 r X-irradiation the decrement of RNA in the early stage is prominent and the synthetic recovery in the later period is inhibited markedly due to radiation damage rather than radiation activation.

## 一. 緒 論

大豆이 發芽過程은 興味있는 問題를 많이 內包하

고 있다. 實驗的으로 發芽 成長을 暗所에서 行하고 CO<sub>2</sub> 同化作用이 일어나지 않도록 해두면 이런 幼植物의 生活은 從屬營養에의 依存으로 始終하게 마련이다. 따라서 한때 子房의 胎座에서 種子가 만들어지는 過程에서는 子葉部라 하더라도 組織自身的 成長, 貯藏物質의 形成等を 爲해서 高度로 合成的인 面을 가졌었을 것은 疑心할 바 없으나, 그것이 組織의 成熟과 함께 合成的機能을 事實上 完全히 포기하고 分解的으로 기울어져 胚軸과 幼根의 成長을 爲한 營養供給을 하기에 이르며, 一般으로 無機養分의 攝取器官인 根과 有機養分의 合成器官인 葉과의 사이에는 物質의 交流를 通하여 密接한 共軛關係가 있다는 등의 事實은 잘 알려져 있는 點이다. 이 共軛的關係가 本格的으로 作用하게 되는 것은 獨立營養의 生活, 即 成長이 進行하여 有機養分의 供給이 葉에서의 CO<sub>2</sub> 同化作用으로써 이루어지는 本格的인 이른바 營養期에 들어서서 비롯하는 것인데, 營養期에의 準備段階라고도 볼 수 있는 發芽期의 從屬的 營養條件下에서는 幼葉과 幼根과를 連結하는 一種의 파이프의 存在인 幼莖의 生成이 急先務인 興味있는 事實이다. 子葉에서 貯藏物質의 大半이 이 幼莖物質로 轉化한다는 事實은 幼莖에서 이루어지는 合成反應 即 成長機轉이 幼葉이나 幼根에서 이루어지는 그것과 判異하리라는 것을 意味할

것이다.

한마디로 表現해서 胚組織中에서 合成的인 大豆 芽部의 各器官과 分解的인 子葉이 各 가지고 있는 energy 發生機構, 即 醱酵系·呼吸系 葉을 包含하는 酸化機構는 根本的으로 異質인 것임으로 于 子葉만을 擇하여 이것의 發芽過程에서의 分解的物 性을 蛋白質 및 RNA의 態度로서 觀察하고 이들의 變動을 基準으로하여 X-線照射가 어떤 影響을 미칠 것인가를 實驗하였다. 大豆의 胚軸組織에서는 위에서 豫想한 바대로 發芽過程에서 發芽初 1~2日 間에 거의 200%나 核酸이 增加함이 報告되어있어<sup>(1)</sup> 이와 對照的組織인 子葉에서는 減少할 것이 充分히 豫想되었고 또한 大豆發芽는 X-線의 線量에 따라서 그리고 部位에 따라서 各其의 組織呼吸이 若干樣相을 달리한다는 報文<sup>(2)</sup>도 있기 때문에 子葉의 境遇를 먼저 究明하려는 것이다.

## 二. 實驗方法

### (I) 胚組織各器官의 蛋白質量

0.1g 重量의 大豆콩만을 골라 18±2°C의 暗所에서 1日 5回의 水分供給을 하면서 4日間 發芽成長케 하고 10粒(個體)씩을 合하여 器官別(子葉, 胚軸, 幼葉, 幼根)로 homogenate를 만들고 10% Trichloroacetic acid로 處理해서 蛋白質을 沈澱케 한다. 이 蛋白沈澱物을 Kjeldahlometry로 N量을 얻은 後 6.25倍하여 蛋白質量을 求하고 다시 其 10/1인 個體值로 換算하였다.

### (II) X-線照射와 RNA 定量法

위와 같은 要領으로 發芽시키되, 4群으로 나누어 各各 正常群, 300r, 600r, 그리고 900r 照射群으로 하였다. X-線照射는 大豆를 polyethylene 주머니에 싸서 140kV, 10mA에서 2mm의 Al filter를 使用 7分3秒(300r), 14分6秒(600r) 그리고 21分9秒(900r)間 照射한 것이다.

照射直後 各群을 다시 5區分하여 1~5 group로 表示하고 이 各 group에 對해서 其子葉만을 RNA 分析을 다음 要領으로 施行하였다.

子葉 homogenate를 氷水槽에서 10% HClO<sub>4</sub>로 처리하여 酸溶解成分을 除去하고 reflux condenser를 使用해서 脫脂한後에 ether로써 2回 洗滌해서 風乾粉末을 만들었다.

이 脫脂粉末 100mg을 秤量해서 N KOH 10ml를 加하고 37°C에서 20時間 加水分解하여 處理하는 Schmid와 Thann-hauser法<sup>(3)</sup>을 適用하였다. 即 加水分解後 氷水槽에서 conc. HClO<sub>4</sub>를 2.5%가 되

도록 添加하여 DNA를 沈澱除去後, 上清의 ribonucleotide 溶液은 40% KOH로써 中和하고 一定量으로 맞춘다음 orcinol反應을 利用한 Dische法<sup>(4)</sup>에 依해 定量한 것이다.

標準 RNA는 Merek製의 yeast RNA를 Vische와 Chargaff法<sup>(5)</sup>으로 精製하였다. 即 定量의 RNA를 2N ammonia를 少量 添加하여 물에 溶解하고 Conc. HCl을 含有하는 95% EtOH液中으로 移하여 얻은 RNA의 沈澱을 66% EtOH를 洗滌하는 過程을 2回 되풀이한 다음 물로 透析하여 다시 EtOH, Ether의 順으로 洗滌하고 나서 乾燥한 것이다. 이를 다시 Sevag의 Chloroform-gel法<sup>(6)</sup>으로 除蛋白하고 나서 HClO<sub>4</sub>로 中和하여 標準 RNA로 삼은 것이다.

## 三. 結果 및 考察

### I. 發芽期의 大豆各器官의 蛋白質變動

大豆發芽期에 있어서의 各器官의 蛋白質含量의 變化는 第一表와 같은데 이를 發芽試驗直前의 子葉, 胚軸, 幼葉 및 幼根의 蛋白總和를 100%로 하고 日字別 器官別로 含量變動의 百分率을 比較해보면 第1圖와 같다. 即 子葉은 發芽進行과 더불어 其含量이 현격히 減少해가는 反面 他器官에서는 漸增

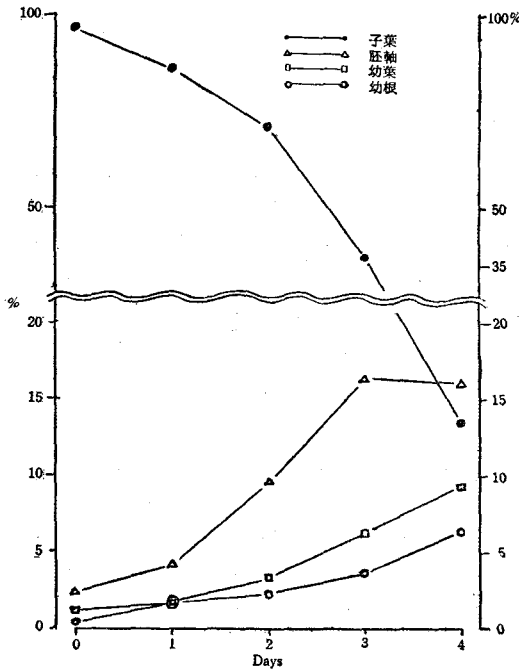
第1表 大豆各器官蛋白質含量 (mg/1粒(個體)의 發芽後 4日間 變動值

器 官	日				
	0	1	2	3	4
子 葉	12.50	11.23	9.20	4.82	1.73
胚 軸	0.32	0.55	1.25	2.12	2.10
幼 葉	0.13	0.20	0.43	0.80	1.23
幼 根	0.05	0.20	0.29	0.45	0.85

함을 볼수 있다.

即 子葉의 蛋白質은 當初 大豆粒全體蛋白質의 96%를 含有하고 있다가 發芽와 더불어 1, 2日을 經過하는 사이에 86, 71%로 減少했다가 3日에는 激減하여 37.5% 그리고 4日에 이르러서는 當初의 1/10을 若干 넘을 程度로 줄어들고 있다, 이에 對하여 胚軸, 幼葉 및 幼根의 蛋白質含量은 全혀 對照的으로 漸增하고 있으며 其中 胚軸은 其增加率이 가장 빠르다. 發芽前의 量은 全含量의 2.38%(0.32mg/粒)이던 것이 發芽後 1~日을 지나는 동안 約 4.2, 9.6, 16.2, 16.0%로 增加하며 幼葉은 約 1.0, 1.5, 3.3, 6.1, 9.4%로 幼根은 約 0.4, 1.5, 2.2, 3.4, 그리고 6.5%로 增加하고 있다.

이로써 볼 때 子葉과 이를 除外한 餘他器官의 發芽期에 있어서의 代謝는 判異함을 알 수 있다. 即



第1圖 發芽大豆蛋白質의 總量에 對해서 發芽에 따라 變動하는 大豆 各器官蛋白質含量을 百分率로 表示한 變動圖

胚組織中 各器官은 發芽中에 合成的인 그리고 子葉은 分解的 代謝相을 보인다. 休眠期를 包含하여 種皮에 들어있는 동안의 胚組織의 生活는 事實上 無氣의이고 이 사이의 胚의 gas代謝는 어느 器官이건 間에 主로 醱酵를 뜻한다고 해도 된다. 發芽와 더불어 種皮가 더지고 組織이 有機的인 條件에 놓임과 同時에 gas代謝는 醱酵에서 呼吸으로 轉換되어 pasteur 效果等의 出現을 보게 될 것인 바, 果然 胚組織의 呼吸系에 關해서 子葉과 發芽各器官間에는 이와 같이 其蛋白質含量으로 보아도 根本的인 差異가 있음을 알 수 있다.

李等의 研究<sup>17)</sup>에 의하여도 이와 같은 面을 엿볼 수 있다. 卽 子葉에 比해서 胚軸이나 幼葉, 幼根部等에는 遊離아미노酸이 많으나 子葉에서는 적고 오히려 peptides의 存在를 확인하고 이것이 發芽와 함께 子葉의 蛋白質이 分解하여 peptide에서 아미노酸으로 된다음 發芽部의 合成的器官으로 운반되어 利用됨을 指摘하고 있다. 그리고 幼根部로 갈수록

Asparagine이나 케토酸含量이 增加함을 들어서 이 部位의 旺盛한 合成的 代謝를 證明하였다. 本實驗의 第1圖에서도 分명한 바와 같이 發芽成長하는 器官은 結局 子葉에서의 分解的代謝產物로써 이루어짐을 알 수 있다.

## II. 發芽期의 大豆子葉 RNA와 이에 미치는 X-線照射의 影響

### (1) 正常群

脫脂하고 酸溶解成分을 除去한 粉末子葉試料 100 mg을 使用하여 發芽期의 10日間을 본 結果는 第2表에 要約한 바와 같다. 發芽後 6日에 이르기까지는 계속 RNA의 含量이 減少하였다가 其後는 다시 增加함을 본다. 當初의 對照值인 51.2 mg을

第2表 大豆發芽期間中의 子葉 RNA含量 (mg/100 mg 脫脂 乾燥重量,

Days groups	Days						
	0	1	2	4	6	8	10
1	66.8	63.3	41.2	29.5	33.2	35.5	51.3
2	41.1	20.0	15.3	14.0	13.0	28.0	40.0
3	50.0	40.6	2a.5	22.0	21.2	29.5	37.7
4	54.9	41.6	29.4	26.7	19.8	28.6	35.0
5	43.2	34.9	25.5	20.0	18.5	27.5	33.5
mean	51.2	40.1	27.8	22.4	21.1	29.8	39.5
percentage (%)	100	78.3	54.3	43.8	41.2	58.2	77.1

基準으로 하고 各各의 變化를 百分率로 보면 6日에는 過半이 줄어서 41.2%까지 되었다가 다시 增加하여 10日에는 77.1%까지로 回復하고 있다.

이와 같은 變化는 (I)의 蛋白質實驗에서 이미 考察되고 있듯이 旺盛한 分解的代謝가 6日까지 나타나고 其 分解된 營養物質이 他發芽器官으로 移動하는 것을 뜻하는 것이다. 그러나 6日이 지나서면 다시 上昇하고 있는 것은 子葉이 지금까지 가지고 있던 RNA 만으로는 이 飽和點에 다다려 旺盛히 epicotyl이나 幼葉이 成長을 爲한 蛋白合成을 要求함에 이 수요를 充足키 爲해, 그리고 子葉自體의 成長을 爲해서 새로운 RNA의 合成이 不可避해짐으로 增加하는 것으로 보인다. 實際로 本實驗條件으로는 6日이 경과한 群에서는 胚軸의 分裂伸長的 成長이 完연하였을 뿐 아니라 子葉附着點에서 莖의 頂端部까지의 成長도 始作이 되고 있었으며 epicotyl이나 幼葉亦是 10日에 이르러서는 子葉 RNA의 再增加(合成)을 뒷받침 할만한 成長이 있었다. 그럼으로 이 時期부터는 光線을 비록 차단하였다고는 하나 一種의 獨立營養의 生活이 始作되고 있는 證據

이며 이른바 發芽期에서 營養期의 轉移를 엿볼 수가 있다.

(2) X-線照射群

正常群에 比해서 X線照射群(300, 600, 900)에 있어서는 子葉 RNA의 變化는 第3, 4, 5表에 表

第3表 200r의 X線照射大豆子葉 RNA의 發芽에 따르는 含量變化(mg/100 mg)

Groups	Days						
	0	1	2	4	6	8	10
1	66.8	49.0	34.8	24.5	30.2	35.0	50.0
2	41.1	22.7	20.3	22.2	11.6	35.3	55.0
3	50.0	33.2	26.8	22.6	20.0	31.2	42.0
4	54.9	34.4	28.5	24.8	20.8	33.3	43.5
5	43.2	29.0	23.2	20.1	17.7	27.2	39.8
Mean	51.2	33.7	26.7	22.8	20.1	32.4	46.1
%	100	65.8	52.1	44.5	39.3	63.3	90.0

表4第 600r의 X線照射大豆子葉 RNA 含量的 發芽에 따르는 變動(mg/粉末試料 100 mg)

Groups	Days						
	0	1	2	4	6	8	10
1	66.8	34.4	30.5	32.0	33.3	23.5	30.2
2	41.1	28.8	14.7	17.7	17.7	27.0	33.0
3	50.0	30.0	21.7	25.0	25.6	25.5	31.6
4	54.9	30.6	21.9	27.6	28.5	27.5	34.6
5	43.2	26.0	18.5	21.4	22.2	21.4	27.0
Mean	51.2	30.0	21.5	24.7	25.5	25.0	31.3
%	100	58.6	42.0	48.0	49.8	48.8	61.1

第5表 900r의 X線照射大豆子葉 RNA 含量的 發芽에 따르는 變動(mg/粉末試料 100 mg),

Groups	Days						
	0	1	2	4	6	8	10
1	66.8	32.0	26.3	16.6	32.3	24.1	26.7
2	41.1	11.3	10.3	19.4	14.4	24.3	29.3
3	50.0	21.1	17.8	17.7	23.5	23.3	27.5
4	54.9	21.5	18.9	18.0	26.3	24.0	29.0
5	43.2	18.2	15.5	15.1	20.4	20.0	23.7
Mean	51.2	20.8	17.8	17.4	23.4	23.1	27.2
%	100	40.6	34.8	34.0	45.7	45.1	53.1

示된 바와 같다.

即 全 X線照射群에 있어서 大概 6日에 이르기까지 減少하였다가 다시 增加하는 一般의 傾向은 正常群과 같다고 하겠으나 其程度에는 線量에 따라 線量에 比例하는 變動을 보이고 있다.

本實驗의 全發芽期間을 初期(1~2日), 中期(4~6日), 그리고 末期(8~10日)로 나누다면 初期에서는 300r 일때 試料 100 mg의 含量은 照射前對照值인 51.2 mg(100%)에 比해 33.7 mg(65.8%), 26.7 mg(51.1%)로서 正常群의 RNA 含量減少보다 其減少率이 若干 컸었다. 이 減少率은 線量에 따라 더 甚해져서 600r 때는 30.0 mg(58.6%), 21.5 mg(42.0%)였고 900 mg에 이르면 20.9 mg(40.6%), 17.8 mg(34.8%)로 激減하였다.

初期의 이와 같은 減少는 다음 두가지의 原因을 들 수 있을 것 같다. 甚하다는 X線에 依해서 發芽上 必要한 分解過程이 刺戟을 받아 促進되는 點이요 다른 하나는 이와는 無關하게 放射線照射로 말려감은 RNA 分子自體 乃至는 細胞自體의 파손이다. 適當量의 放射에너지는 生活細胞의 代謝에 자극적으로 作用할 것인 바, 實際로 發芽中에는 幼莖의 伸長的成長 이라던가 各器管의 呼吸(P/O比) 등이 對照大豆에 있어서 보다 X線照射에 의해 促進되고 있음이 報告되어있다. (8) 即 幼莖의 伸長 300r을 照射하였을 때 가장 많은) 促進을 하였고 子葉의 呼吸 亦是 그러한 것이다.

그런데 中間期인 4~6日에 이르르면 各群間에 明確한 相互關係란 엿볼 수가 없었다. 對照群에서 4, 6日值가 各各 22.4 mg (34.8%), 21.1 mg(41.2%)임에 對해 300r 照射群에서는 22.8 mg(415%), 20.1 mg(39.3%)로서 別로 變化에 差를 볼 수 없으며 照 600r 射群에서는 24.7 mg(48.0%), 25.5 mg(49.8%)로서 多리혀 對照群보다 減少率이 若干 높은 便이며, 900r 照射群에서는 17.4 mg(34.0%), 23.4 mg(45.7%)로서 4日值는 현저히 減少한 것이나 6日值는 大同小異라 하겠다.

以上으로 보아 發芽에 隨伴하여 생기는 子葉의 分解代謝에 起因하는 RNA의 減少는 中間期로 大略 끝나고 末期의 이른바 一種의 獨立營養의 時期에 이르면 8, 10日에서 對照群은 29.8 mg(58.2%) 39.5 mg(77.1%)으로 다시 元來의 含有量의 2/3以上이 再合成되어가고 있다. 300r 照射群에서는 各各 32.4 mg(63.3%), 46.1 mg(90.0%)로써 이 獨立營養期의 子葉 RNA 再合成이 거의 元來의 含量에 接近하고 있어 X線照射로 말미암은 刺戟의 合

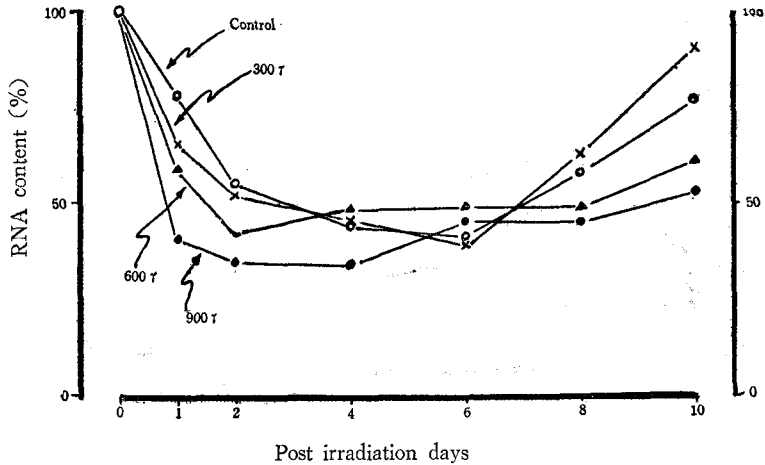
成 促進을 볼 수 있었다.

그러나 이에 反해서 600 r 照射群의 境遇는 25.0 mg(48.8%), 31.3 mg(61.1%)였고 900 r 照射群의 境遇는 23.1 mg(45.1%)와 27.2(53.1%)이었다. 卽若干 增加의 傾向을 보였다고는 하겠으나 中期로부

터의 增加가 對照群 乃至는 300 r 照射群에서 처럼 典型的이라 할 수는 없었다.

이와 같은 增減關係를 全過程을 통하여 百分率로 比較하여보면 第2圖와 같다.

第2圖에서 알 수 있듯이 末期의 含量增加는 1~



第2圖 X線照射에 따르는 大豆發芽過程中的 子葉 RNA 含量變動의 百分率 比較圖

6日까지의 發芽期로부터 이른바 本來의 營養期로의 變化를 뜻하는 것이며 發芽期에서 分解의 器官으로서 他器官에의 營養供給을 中止한 것이다. 이 時期에 있어서 第1圖에서 알 수 있듯이 胚軸같은 데서는 이미 그 蛋白質含量이 飽和點에 다른 것이다. 따라서 더 以上 從屬營養的 成長을 할 必要가 없게 되므로 子葉 RNA는 스스로의 成長을 爲하게 될 것임으로 增加하는 것이라 하겠다.

이로써 于先 分明한 것은 子葉이 發芽過程에선 分解의 特性을 띠는 점이다. RNA는 그 全種類가 DNA의 遺傳情報에 따라 蛋白質合成에 關與하는 것이므로 그의 增減은 곧 蛋白質 增減과 函數的關係에 있는 것이다. 果然 第1回에서 이 點은 分明히 드러나 있으며 第2圖에서도 子葉의 分解의 代謝는 그 RNA의 減少로서 立證되는 셈이다. 널리 알려져 있는 바와 같이 發芽各器官은 어느 것이나 相當히 큰 구립 酸脫水素酵素作用을 보이지만 子葉에는 全혀 이 作用이 없다. 이 酵素는 周知되어 있듯이 매우 效率이 높은 metabolic dynamo인 TCA 싸이클의 構成要因의 하나인 바 이의 缺如는 TCA 싸이클의 活動이 없음을 말하며 따라서 他發芽器官에 比해서 매우 效率이 나쁜 酸化系가 作用하고 있는 것이다.

이와 같이 分解的(發芽期에서)인 子葉의 RNA는 X線照射으로써 線量에 比例하여 減少하는 것은 前論한 바도 있지만 末期에서 自體의 成長을 爲한 再合成의 速度가 300 r 照射時는 오히려 對照群보다도 높은 點으로 보아 分解合成共히 促進됨을 말한 다 하겠으나 其以上의 線量의 照射에 依해서는 減少가 더욱 甚할 뿐만 아니라 末期의 再合成에 있어서도 回復이 不振함을 볼 때 X線照射로 인한 RNA 自體의 破壞 乃至는 RNA 合成系의 모든 酵素의 破損葉이 일어나서 도리히 成長에 차질을 가져오고 있는 듯하다. 未葉<sup>(8)</sup>도 높은 線量(900 r)에 依해서는 오히려 呼吸이나 幼莖伸長 등이 抑制됨을 밝히고 있다. 뿐만 아니라 Lajtha等<sup>(9)</sup>에 依하면 動物組織의 경우이지만 300 r 以下는 그렇지 않으나 500 r 以上의 線量으로 照射하면 人骨髓 DNA 合成이 直接 抑制를 받는 다하였는 바 DNA 合成量의 減少는 結局 細胞自體의 破損으로 因해서 오는 合成系의 瓦解 및 巨大分子로서 放射線損傷을 直接分子自體가 받기 때문에 오는 것이라면 DNA 만큼 큰 分子는 못 된다 하더라도 이에 그 合成이 依存되는 RNA 亦是 減少할 것이 妥當할 것이다. 그리하여 끝내는 末期의 獨立의 成長期에 이르러도 其 영향은 持續되어서

正常成長을 爲한 RNA 含量에 未達하는 것으로 보인다. 따라서 300 r 以下の X 線照射와 600 r 以上の 境遇는 大豆發芽에 對照的으로 前者는 자극促進的으로 後者는 파괴억제의으로 作用하는 것으로 考察되는 것이다.

#### 四. 摘 要

大豆發芽時의 各器官蛋白質의 變動과 子葉 KNA 含量의 增減이 X 線照射로 어떤 變化를 이끄는가를 分析研究하여 다음의 結果를 얻었다.

1) 子葉을 除外한 他發芽器官 即 胚軸, 幼葉, 幼根 等은 發芽와 더불어蛋白質이 增加하나 子葉에서는 減少함으로 發芽에 있어서 前者들은 合成的인 後者에서는 分解的인 代謝를 營爲한다.

2) 發芽成長中의 大豆子葉 RNA 는 發芽始作後 6 日까지는 減少하고 其後는 增加하는 바, 300 r 의 X 線照射로서 이 變化는 促進되는 反面 600 r, 900 r 의 X 線照射로서는 오히려 損傷的으로 作用한다.

#### 參 考 文 獻

(1) S. CoCucci, R. Maggio, A. Monroy, & E.

Marre; *Atti Accad. Nazl. Lincei, Rend. Classe, Fis., Mat. Nat.* 388, 545 (1965) in *Chem. Abst.*, **63**, 1865 (1965)

- (2) Y.E. Choo, S.W. Kim, & K.Y. Lee, *Korean Med. J.*, **6**, 81 (1961)
- (3) G. Schmidt, & S.J. Tharnhauser; *J. Biol. Chem.*, **161**, 83 (1945)
- (4) Z. Dische; *The Nucleic Acids*, **1** 301, edited by Chargaff. E., Academic Press, New York (1955)
- (5) E. Vischer, & E. Chargaff, *J. Biol. Chem.*, **176**, 715 (1948)
- (6) M. Seuag, D.B. Lackman, & J. Smolens; *J. Biol. Chem.*, **124**, 425 (1938)
- (7) 李基寧, 李春寧, 金昇元, 高在炅; *서울大學論文集*, **7**, (B) 55(1958)
- (8) 朱永恩, 金昇元, 李基寧 *綜合醫學*; **6**, 81(1961)
- (9) L.G. Lajtha, R. Oliver, T. Kumatori, & F. Ellis; *Radiation Res.* **8**, 1(1958)