

人蔘의 Microbody에 관한 電子顯微鏡의 研究

金 宇 甲 · 李 鳳 熙 · 吳 鍾 娟

(高麗大學校 理工大學 生物學科)

Electron Microscopic Studies on Microbody of *Panax ginseng*

Woop Kap Kim, Bong Hee Lee, and Chong Yon Oh

(Department of Biology, Korea University, Seoul, Korea)

1971. 11. 20 接受

ABSTRACT

The distribution, ultrastructure, and cytochemical properties of microbodies (peroxisomes) from the main roots and mature leaves of *Panax ginseng* were studied by electron microscopy included the activity of catalase in 3, 3'-diaminobenzidine (DAB) medium at pH 9, using glutaraldehyde-fixed tissues.

The microbodies, which are about 0.5~1.5 μ diameter, were described from mesophyll cells of mature leaves and storage cells and cambial cells of main roots. The microbodies of the ginseng include the coreless, homogeneous matrix, in which catalase activities are present.

緒 論

細胞質內的 單一膜으로 된 4型小體(Maunsbach, 1966) 가운데 第一型인 microbody(Peroxisome)는 Rhodin(1954)이 생쥐의 腎尿細管 上皮細胞에서 처음으로 言及한 以來 脊椎動物(Tsukada et al. 1965, 1968; Jones & Fawcett, 1966; Stephens & Bills, 1967)에서 뿐만 아니라 無脊椎動物(Auclair, 1959; Corrigan et al, 1963) 및 原生動物(Hedley et al, 1967)을 비롯하여 植物에서도 알려져 있다.

植物細胞의 microbody는 Porter와 Caulfield(1958)에 의해서 양과 根端의 分裂中인 細胞에서 처음 觀察된 以來 많은 研究가 계속되고 있는데 (Porter & Machado, 1960; Thornton & Thimann, 1964; Marinons, 1965) Mollenhauer 등(1966)은 高等植物, 藻類 및 菌類에도 microbody가 存在한다는 實驗의 證據를 提示하므로써 動物細胞의 peroxisome과 形態의 類似性을 지닌 小器官이 存在한다는 것이 證明되었다.

Breidenbach와 Tolbert(1968)는 脂肪性 種子에서 microbody 分劃區에 glycolate oxidase, glyoxylate reductase와 catalase가 含有되어 있고, 또 이 peroxisome은 光合成과 關聯된 光呼吸(photorespiration)에 關與하고 있음을 밝혔다. 即 이小體는 動物細胞의 peroxisome의 特徵의 酵素인 catalase, urate oxidase,

D-amino acid oxidase(Baudhuin & Beaublay, 1963; De Duve & Baudhuin, 1966)를 含有하고 있음을 나타낸다. 또 Eredernick와 Newcomb(1969)은 담배잎에서 peroxidic 活性檢出에 널리 쓰이는 3, 3'-diaminobenzidine을 利用한 電顯細胞化學的 研究에서 單一膜性인 小體의 基質에 catalase 活性이 있음을 報告했다. 따라서 이 microbody는 보다 많은 材料에서 構造와 機能面의 共通點을 밝히므로써 動植物細胞의 共通된 細胞小器官으로 취급되리라 믿어진다. 著者들은 韓國產 人蔘의 葉系와 根系에서 catalase 活性을 지닌 microbody가 觀察되었으므로 그 所見을 報告한다.

實驗材料 및 方法

忠南 錦山과 京畿道 江華邑의 人蔘栽培地에서 3年生 人蔘(*Panax ginseng*)을 簡易收穫하여 研究室에 移植한 다음날 成熟葉과 主根系를 實驗材料로 使用했다.

各組織系를 1mm² 크기로 適出하여 4°C의 2.5% glutaraldehyde (sodium cacodylate buffer, pH 7.2)에 3時間 前固定하고, 2% O₃O₄에 後固定했다. 電顯細胞化學的 方法으로는 前固定한 다음 50 μ 切片을 만들어 Novikoff와 Goldfischer(1969)의 incubation medium인 3, 3'-diaminobenzidine, 0.05M propandiol buffer (pH 10.0), 그리고 3% H₂O₂ 혼합액에 37°C에서 1時間 處理했다. 對照實驗은 H₂O₂를 含有하지 않

은 媒質과 H_2O_2 대신 0.01M KCN 을 含有하는 媒質에 各各 處理한 다음 propandiol buffer 로 洗滌하고 2% O_3O_4 에 後固定했다.

固定이 끝난 모든 試料은 ethanol series 와 propylene oxide 로 脫水하여 Epon 812 混合液(Luft, 1961)으로 包埋했다. Porter-Blum MT-2 ULTAMICROTOME 으로 材料를 切斷하여 超薄切片을 만들고, uranyl acetate 와 lead citrate (Reynolds, 1963)로 電子染色, 電顯細胞化學의 基質處理를 한 것은 染色하지 않은 狀態에서 各各 Hitachi HS-7S 電子顯微鏡(50 kv)으로 觀察하였다.

結果 및 考察

人蔘의 成熟葉의 中央部에 있는 同化組織의 橫斷面에서 棚狀組織과 海綿組織細胞 및 主根系의 貯藏組織細胞(Fig. 3), 形成層細胞(Fig. 2)에서 microbody 가 觀察되었다.

microbody 는 70~76Å인 單一膜으로 된 $0.5\mu\sim 1.5\mu$ 의 球形乃至 卵形小體로서 細胞質안에 單獨으로 유리되어 있거나(Fig. 2, 3, 4), 다른 小器官과 連接된 것이 觀察되었다(Fig. 1, 3, 4).

同化組織의 microbody 는 主로 葉綠體, mitochondria와 더불어 存在하는데 特히 葉綠體의 外膜이 microbody와 連接된 예는 Fig. 1에서와 같이 흔히 나타나다. 그밖에 mitochondria와도 連接된 像이 나타나는데, Fig. 1, 4에서와 같이 microbody, 葉綠體, mitochondria가 서로 相關된 三角關係를 이루고 있는 경우가 많다. 그러나 根系에서는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 mitochondria의 外膜에 連接된 것이 나타나나 이로 因한 形態的 變形은 別로 찾아볼 수 없었다.

microbody의 基質은 同質性인 微細顆粒이 均等하게 分散되어 있고 結晶體나 局部的인 板狀構造는 觀察되지 않았다(Fig. 1, 3). 이 同質性인 微細顆粒은 細胞化學的 標準 DAB基質을 處理한 結果 catalase 活性을 나타냈으나(Fig. 2, 4) 억제제를 含有하는 對照實驗의 DAB 基質에서는 catalase 活性을 나타내지 않았다.

細胞質內的 單一膜性 小體인 microbody 는 Rhodin (1954)에 依하여 言及된 以後 많은 관심을 모아 왔다. 이 小體는 Holt 와 Hicks(1961)가 lysosome 과는 달리 acid phosphatase 를 含有하지 않고 또 pinocytosis 나 phagocytosis 로 다른 異物을 축적하지 않은 점, 細胞化學的 方法(Novikoff, Goldfischer, Beard, 1968)으로 peroxisome 의 特定한 酵素를 識別하고, 生化學的으로 peroxisome 分割區에 D-amino acid oxidase,

catalase, urate oxidase(Baudhuin et al., 1965; De Duve & Baudhuin, 1966) 등의 酵素를 識別하므로서 lysosome 과 더불어 peroxisome 을 細胞質內的 機能上 獨立된 小器官으로 취급하게 되었다.

以上과 같이 動物細胞質內에 있는 peroxisome 이 獨立된 小器官으로 등장하게 되자 아울러 植物에서는 phragmosome(Porter & Caulfield, 1958), crystal-containing body(Thornton & Thimann, 1964), proteosome(Gerola & Bassi, 1964) 등으로 취급되어 왔는데, Mollenhauer 等(1966)은 高等植物, 藻類, 菌類를 대상으로 한 조사결과 植物의 cytosome 까지 포함시켜서 動物細胞의 peroxisome 과 微細構造의 으로 類似한 點을 들어 peroxisome 과 同一한 것이라고 했다. Frederick 等(1968)은 植物의 microbody 를 많은 研究者들이 spherosome 과 혼용해왔다고 지적하면서, *Phaseolus vulgaris*, *Antirrhinum majus*, *Triticum vulgare*, *Hordeum vulgare*, 그리고 *Nicotiana tabacum* 의 葉同化組織細胞에 $0.5\sim 1.5\mu$ 인 microbody 라고 볼 수 있는 小體가 觀察되었는데 이 小體의 基質에는 同質性이거나 또는 電子密度가 높은 纖維, 結晶體를 含有하고 있고(1969), 또 動物의 peroxisome 의 特性인 DBA 基質을 利用한 細胞化學的 方法을 適出하여 담배잎의 同化組織(1969) 및 *Petunia sp.*, *Triticum sp.*, *Torenia sp.*의 同化組織細胞의 microbody 에 catalase 活性이 있음을 確認하게 되므로서(1971) microbody 는 動物細胞에 共存하는 細胞小器官으로 등장하게 되었다.

microbody 의 微細構造의 特徵은 限界膜이 $65\sim 80\text{Å}$ (Maunsbach, 1966; Tisher et al., 1968)이고, 그 모양은 球形에서 長方形에 이르기까지 여러가지 모습을 하고 있고(De Duve & Baudhuin, 1966; Novikoff et al., 1972), 그 크기는 $0.1\sim 1.7\mu$ 에 이르기까지 多樣하다(De Duve & Baudhuin, 1966). 人蔘의 microbody 는 前述한 바와 같이 限界膜이 $70\sim 76\text{Å}$ 이고 그 크기는 $0.5\sim 1.5\mu$ 으로서 대체로 球形乃至 卵形이었다. 特히 DAB 基質處理로서 catalase 活性을 나타내는 同質性이거나 內部에 core 를 가지고 있는데, Frederick 等(1968)과 Vigil 等(1968)은 基質의 特性에 따라 첫째 coreless microbody, 둘째 noncrystalline core 를 가지고 있는 microbody, 셋째 crystalline core 를 가진 microbody 로 類別하고 있다. 生化學的 研究에 依하면 microbody 에서 검출되는 catalase 와 D-amino acid oxidase 는 同質性인 基質에, urate oxidase 는 結晶體에 局存한다고 報告되고 있다(Baudhuin et al., 1965; De Duve, 1965; Graham & Karnovsky, 1965;

Tsukada et al., 1966).

植物細胞의 microbody 基質內的 結晶體는 Thornton과 Thimann(1964)에 의하여 귀리의 子葉鞘頂端細胞에서 처음 報告되었는데 Cornsho(1965)는 모든 植物細胞의 microbody 에는 結晶體를 含有하고 있는 것 같다고 報告했다. 그러나 Mollenhauer等(1966)과 Frederick等(1968)은 分裂組織 및 分化된 細胞에서 同質적인 것도 있으나 內的 發生過程을 거치는 동안 植物의 種, 器官, 組織에 따라 여러가지 core 를 形成한다고 했다.

core乃至 結晶體는 *Pythium ultimum*의 菌糸細胞(Mollenhauer et al., 1966; Vigil et al., 1968), *Fragaria*胚의 原根冠細胞(Villiers, 1967), 담배 잎의 葉肉組織細胞(Frederick et al., 1969), *Phleum pratense*의 葉內細胞(Vigil et al., 1968)等 많은 植物에서 觀察되었으나 人蓼에서는 core 및 結晶體는 전혀 觀察되지 않은 coreless microbody 만이 나타났었다.

References

- Auclair, J. L. 1959. J. Insect physiol. 3, 57.
- Baudhuin, P. and Beaufay, H. 1963. Arch. Intern. Physiol. Biochim. 71, 119.
- Baudhuin, P., Beaufay, H., and De Duve, C. 1965a. J. cell Biol. 26, 219.
- Beard, M.E. and Novikoff, A.B. 1968. J. Histochem. Cytochem. 16, 512.
- Breidenbach, R.W., Kahn, A., and Beevers, H. 1968. Plant Physiol. 43, 705.
- Corrigan, J.J., Wellner, D., and Meister, A. 1963. Biochim. Biophys. Acta. 73, 50
- De Duve, C. 1965a. J. cell Biol. 27, 25A.
- De Duve, C. and Baudheim, P. 1966. Ann. Rev. Physiol. 46, 435.
- Frederick, S.E., Newcomb, E.H., Vigil, E.L., and Wergin, W.P. 1968. Planta 81, 229.
- Frederick, S.E. and E.H. Newcomb. 1969. J. cell Biol. 43, 343.
- Frederick, S.E. and E.H. Newcomb. 1969. Science 163, 1353.
- Frederick, S.E. and E.H. Newcomb. 1971. Planta 96, 152.
- Gerola, E. M. and Bassi, M. 1964. Caryologia 17, 339.
- Graham, R.C., Jr. and Karnovsky, M.J. 1965. J. Histochem. Cytochem. 13, 448.
- Hedley, R.H., Parry, D.M., and Wakefield, J. st. J. 1967. J. Roy. Microscop. Soc. 87, 445.
- Holt, S.J. and Hicks, R.M. 1961. J. Biophys. Biochem. Cytol. 11, 47.
- Jones, A.L. and Fawcett, D.W. 1966. J. Histochem. Cytochem. 14, 215.
- Luft, J.H. 1961. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9, 409.
- Marinos, N.G. 1965. Protoplasma 60, 30.
- Maunsbach, A.B. 1966b. J. Ultrastruct. Res. 16, 197.
- Mollenhauer, H. H., Morre, D.J., and Kelley, A.G. 1966. Protoplasma 62, 44.
- Novikoff, A.B. and Goldfischer, S. 1968. J. Histochem. Cytochem. 16, 507.
- Novikoff, A.B. and Goldfischer, S. 1969. J. Histochem. Cytochem. 17, 675.
- Parter, K.R. and Caulfield, J.B. 1958. Proc. 4th Inter. Congr. Electron Microscopy Berlin, 1958, Vol. 2, P. 503. Springer, Berlin.
- Porter, K.R. and Machado, R.D. 1960. J. Biophys. Biochem. Cytol. 7, 167.
- Reynolds, E.S. 1963. J. cell Bio. 17, 208.
- Rhodin, J. 1954. "Correlation of Ultrastructural Organization and Function in Normal and Experimentally Changed Convolutated Tubules Cells of the Mouse Kidney." Aktiebolaget Godvil, Stockholm.
- Shnitka, T.K. and Youngman, M.M. 1968. In preparation.
- Strephens, R.J. and Bils, R.F. 1967. J. Ultrastruct. Res. 18, 456.
- Thornton, R.M. and Thimann, K.V. 1964. J. cell Biol. 20, 345.
- Tisher, C.C., Finkel, R.M., Rosen, S., and Kendig, E.M. 1968. Lab. Invest. 19, 1.
- Tolbert, N.E., Oeser, A., Kasaki, T., Hageman, R.H., and Yanrazaki, R.K. 1968. Federation Proc. 27, No. 2, 344
- Tsukada, H., Mochizuki, Y., and Fujiwara, F. 1965. Trans. Soc. Pathol. Jap. 54, 160.
- Tsukada, H., Mochizuki, Y., and Fujiwara, S. 1966a. J. cell Biol. 28, 449.
- Tsukada, H., Mochizuki, Y., and Konishi, T. 1968. J. cell Biol. 37, 231.
- Vigil, E.L., Wergin, W.P., and Newcomb, E.H. 1968. In preparation.

Explanation of Figures

Fig. 1. Microbody from the mature leaf of *Panax ginseng* containing coreless, homogeneous matrix. The single membrane of microbody is in close contact with the outer membrane of chloroplast and mitochondria.

Fig. 3. Microbody with pale, homogeneous matrix from the cell of a ginseng main root is seen at the left top. Microbody is also in contact with the mitochondria from the cell of root.

Fig. 2. Microbody from the cell of a ginseng main root. Microbody, incubated in DAB medium, have the single membrane which is associated with mitochondria (arrow). The electron-dense matrix, which corresponds to catalase activity products is seen on two microbodies.

Fig. 4. Three microbodies from the mature leaf of a ginseng. Microbodies are located between chloroplasts. It is supposed that two subcellular organelles are functionally associated with each other.

