

지질 및 전분성 종자에서 지질 및 지질가수분해효소의 분포

金 宇 甲 · 劉 成 哲
(高麗大學校 理科學 生物學科)

Distribution of Lipid and Lipase in Lipid- and Starch-Rich Seeds

Kim, Woo Kap and Seong Cheol Yu
(Department of Biology, Korea University, Seoul)

ABSTRACT

Formation, cellular distribution and structural changes of storage lipid, and active site and cellular localization of lipase in endosperms and cotyledons of lipid-rich seeds such as *Helianthus annuus*, *Ricinus communis* and *Pinus koraiensis*, and in those of starch-rich seeds such as *Pisum sativum* and *Zea mays* were investigated in relation to the seed development by cytochemical methods. In endosperms and storage cotyledons of lipid- and starch-rich seeds after seed-gathering, there were widely distributed storage material which was composed of spherical protein bodies, spherosomes, and starch granules. But cellular organelles were hardly observed in the cytoplasm. Staining pattern of vesicles released from SER, and of low electron dense membranous granules, which were perhaps at an early stage of spherosomes, were the same as in the spherosome. Electron-dense granules released from RER were observed in the vicinity of plasma membrane. As a result of lipid staining, the spherosomes were more electron dense and were uniform as compared with the protein matrix within the protein body and cytoplasmic proteinaceous granules. The major component of the spherosome was determined to be lipid. Spherosomes and vesicles containing SER-released materials showed the same as in the electron density. Lipase activity was especially strong in the inner region and on the surface of decomposed spherosomes and near the plasma membrane.

서 론

종자의 배유세포내 저장성 지질은 종자 발달초기에 나타나 발아 이전에 저장단백질과 함께 분해되는 것으로 보고되어 있다(Van der Eb and Nieuwdrop, 1967; Molle-nhauer and Totten, 1971a, b). 식물 종자의 미세구조 연구에 있어 세포내 지질성분은 낮은 염색상으로 인하여 지질의 형성부위, 분포양상, 배 발달 과정에서의 구조변화 및 기능 등을 확실히 규명함에 미흡함이 많았다. 본인들은

세포내 지질성분에 thymol을 처리하여 단백질 및 기타 성분으로 가려있는 지질을 노출시켜 이중결합을 가진 farnesol로써 OsO₄의 친화력을 높여 전자염색상을 향상시킨다는 방법을 창출하여 곤충에 적용한 Wigglesworth의 방법(1971, 1975)인 전자현미경을 이용한 지질염색법을 국내. 외적으로 식물에 처음 적용하여 인삼종자의 배유세포내 지질의 분포를 효율적으로 확인하였다(Yu *et al.*, 1992).

본 연구는 인삼종자에 이어 지질성 종자(해바라기, 피마자, 잣)와 전분성 종자(완두, 옥수수)를 대상으로 지질염색법과 지질가수분해효소를 이용하여 식물체내의 지질의 확인에 유용하게 적용할 수 있는 새로운 실험방법의 기초 지식을 제공함은 물론 종자내 저장조직인 배유와 자엽내의

본 연구는 1991년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구 조성비에 의하여 수행되었음.

저장지질의 형성, 분포 및 구조적 변화 등과 지질가수분해효소의 활성부위 및 분포양상 등을 규명함으로써 식물 종자내의 지질에 관한 연구를 종래의 생리 및 생화학적 연구의 차원에 구조적인 면을 덧붙여 구조생리학적 차원에서 추구할 수 있는 기초지식을 제공하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료. 해바라기(*Helianthus annuus*), 피마자(*Ricinus communis*), 잣나무(*Pinus koraiensis*) 등의 지질성 종자와 완두(*Pisum sativum*), 옥수수(*Zea mays*) 등의 전분성 종자의 채종후 4°C에 보관된 미개갑 종자를 대상으로 배유 및 저장성 자엽의 조직소편을 해부현미경하에서 적출하여 이를 각각 공시재료로 사용하였다.

미세구조. 조직소편을 paraformaldehyde-glutaraldehyde(Karnovsky, 1965)용액에서 1시간 전고정하여 완충액(0.1 M phosphate buffer, pH 6.8)으로 세척한 다음, 1% osmium tetroxide에서 1시간 후고정 하였다. 동일한 완충액으로 세척한 재료는 ethanol-acetone의 탈수과정을 거쳐 Epon 혼합액과 Spurr's low viscosity medium에 포매하였다. 포매된 재료는 LKB-V형 ultramicrotome으로 1µm 두께의 절편을 제작한 후, methylene blue-basic fuchsin으로 염색하여 관찰 대상부위를 확인한 다음 동일한 부위에서 은색절편을 제작하여 copper grid(200 mesh)에 부착시킨 후, 1% uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과전자현미경(JEM 100 CX-II, 80 kV)으로 관찰하였다.

지질염색반응. Wigglesworth(1975, 1981, 1985)의 방법에 따라 10% sucrose용액(4°C)내에서 분리한 조직소편을 0.1 M cacodylate buffer에 포함된 2.5% paraformaldehyde-1.25% glutaraldehyde(4°C, pH 7.4)와 1% OsO₄(4°C, pH 7.4)로 전고정 및 후고정한 다음, 10% sucrose에 함유된 0.1% thymol(60°C)용액과 60% ethanol에 함유된 10% farnesol(실온)용액에 각각 1시간 동안 반응시켰고, 50% ethanol로 수회 세척하여 다시 1% OsO₄(4°C, pH 7.4)로 1시간 동안 재고정하였다. 대조구는 위의 과정 중 thymol과 farnesol을 생략하였다. 각각의 재료는 acetone 탈수과정을 거쳐 Spurr's low viscosity medium에 포매한 후, 은색절편을 제작하였고 비염색 하에서 투과전자현미경으로 관찰하였다.

지질가수분해효소(lipase). Nagata(1974)의 방법에 따라 조직소편을 0.1 M cacodylate buffer에 함유된 2.5% glutaraldehyde(pH 7.2, 0-4°C, 1시간)에 전고정한 다음 동일 완충액으로 수회 세척한 후, 조직 소편을 50µm 정도로 만들어 기질용액[5% Tween 80 solution(1.0 ml), 0.2 M Tris buffer(pH 7.2, 2.5 ml), 10% aqueous calcium chloride(1.0 ml), distilled water(20.5 ml)]에 반응시켰다(37°C, 3시

간). 반응시킨 조직을 완충액에 함유된 2% EDTA(pH 7.2)에 5분간 처리한 후 동일 완충액으로 수차례 세척하였고, 0.15% lead nitrate 용액에 10분간 처리한 다음 동일 완충액으로 세척하였다. 대조구는 기질반응을 생략하였다. 각각의 조직은 1% OsO₄(pH 7.2, 4°C, 1시간)로 후고정하여 acetone 탈수과정을 거쳐 Epon 혼합액에 포매한 후, 은색절편을 제작하였으며 1% uranyl acetate로 단일염색 후 투과전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

미세구조. 채종후의 해바라기(*Helianthus annuus*), 피마자(*Ricinus communis*), 잣나무(*Pinus koraiensis*) 등의 지질성 종자와 완두(*Pisum sativum*), 옥수수(*Zea mays*) 등의 전분성 종자의 배유 및 자엽세포에는 구형의 단백질과 지질소구인 스페로솜, 전분과립 등의 저장물질이 널리 분포하였으며 세포내소기관은 드물게 관찰되었다(Fig. 1).

해바라기의 자엽에 분포하는 다양한 크기의 스페로솜들은 세포벽과 인접한 부위에서 형성되어 세포 중앙부로 이동되는 양상을 보였으며, 특징적으로 이들의 막과 기질은 염색상의 차이를 보였다. 세포내소기관 중 활면소포체는 시스터내의 끝에서 형성된 소포들을 방출하고 있었으며, 이들의 염색상은 스페로솜의 그것과 동일하였다. 반면에 이와는 상이하게 높은 전자밀도를 가진 단백질성 과립들이 세포벽과 인접한 부위에서 관찰되었다. 다수의 스페로솜에 둘러싸여 위치한 단백질은 퇴행과정을 밟고 있어 단백질기질의 전자밀도는 낮게 관찰되었다(Fig. 1A). 피마자의 배유에는 전자밀도가 높은 단백질이 관찰되었으며 다양한 퇴행과정을 보여주는 단백질기질의 분해양상이 관찰되었다. 단백질과립을 둘러싸고 있는 스페로솜의 염색상은 상대적으로 낮았으며, 세포내소기관은 세포의 대부분을 점유하는 이들 저장물질로 인하여 관찰할 수 없었다(Fig. 1B). 잣나무의 배유에는 낮은 염색상을 갖는 부정형의 스페로솜들이 관찰되었으며 전자밀도가 높은 단백질은 점진적으로 주변부로부터 분해됨에 따라 기존의 단백질이 위치했던 부위는 액포로 대체되었다(Fig. 1C). 완두의 자엽세포의 경우 세포의 대부분은 단백질과립들로 차 있는데 이들 또한 다양한 퇴행과정을 밟고 있어 전자밀도가 각각 상이하였고 단백질기질은 점진적으로 분해되는 양상을 보였다. 세포내소기관으로는 구형의 미토콘드리아가 관찰되었으며 세포벽과 인접하여 위치한 조면소포체에서 방출한 전자밀도가 높은 과립들이 관찰되었다(Fig. 1D, E). 옥수수 배유 세포의 대부분은 대형의 전분과립들로 차 있었으며 염색상이 낮은 지질소구인 스페로솜들은 세포의 주변부에 위치하였다(Fig. 1F).

지질염색반응. 지질 및 전분성 종자의 배유 및 자엽을



Fig. 1. Electron micrographs of storage cotyledon (A, D-E) and endosperm (B-C, F) cells in lipid and starch-rich seeds. Protein bodies, spherosomes and starch granules are distributed in endosperm and cotyledon cells. Various degraded processes of protein bodies are observed. Electron lucent and dense materials appear to be accumulated in vesicles produced by SER and RER near the plasma membrane. A, *Helianthus annuus*; B, *Ricinus communis*; C, *Pinus koraiensis*; D-E, *Pisum sativum*; F, *Zea mays*. CW, cell wall; M, mitochondria; PB, protein body; RER, rough endoplasmic reticulum; S, spherosome; SER, smooth endoplasmic reticulum; SG, starch granule; V, vacuole. Bars indicate 1.0 μ m.

대상으로 지질염색을 시행한 결과, 일반적인 미세구조 및 대조구와는 다른 양상을 보여 스페로솜은 단백질성 물질 보다는 전자밀도가 높고 균일하여 그 구분이 용이하였다 (Fig. 2).

해바라기의 자엽세포에 나타나는 스페로솜은 강한 염색 반응을 나타내었으며 이와는 달리 단백질의 염색상은 상대적으로 낮게 관찰되었다. 또한 비교적 단백질기질이 충실한 단백질과 스페로솜 그리고 조면소포체에서 형성

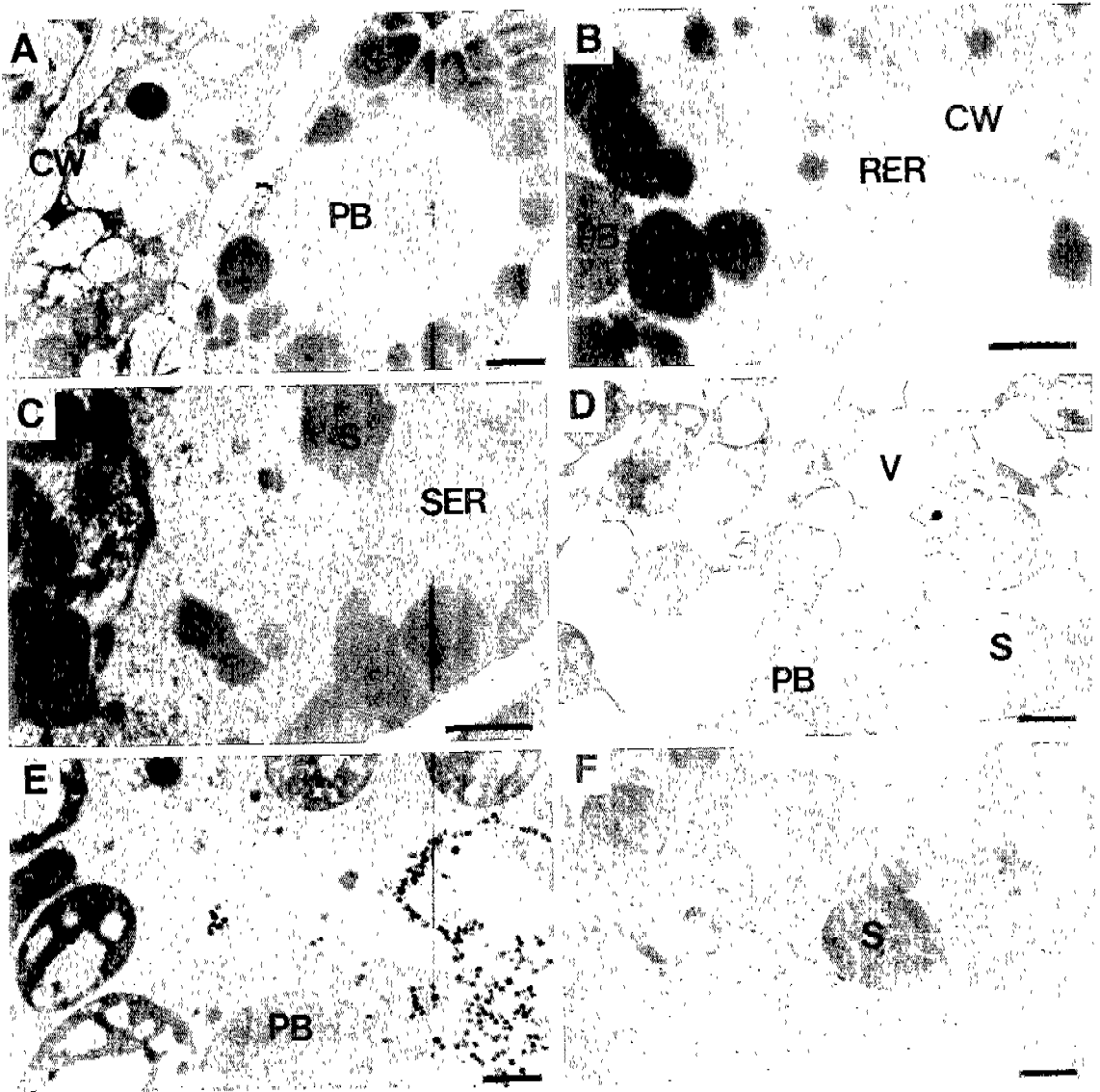


Fig. 2. Electron micrographs of lipid staining in storage cotyledon (A-B, E) and endosperm (C-D, F) cells in lipid and starch-rich seeds. Electron density of spherosomes are more than those of the protein matrix within the protein body. A-B, *Helianthus annuus*; C, *Ricinus communis*; D, *Pinus koraiensis*; E, *Pisum sativum*; F, *Zea mays*. CW, cell wall; PB, protein body; RER, rough endoplasmic reticulum; S, spherosome; SER, smooth endoplasmic reticulum; V, vacuole. Bars indicate 1.0 μ m.

되는 물질을 함유한 과립들은 염색상이 서로 상이하어 그 구분이 용이하였다(Fig. 2A, B). 피마자 배유세포내의 스페로솜은 강한 염색반응을 보였는데 인접한 활면소포체에서 방출하는 물질을 함유한 소포와 염색상이 동일하여 상호 관련성이 있음을 알 수 있었다(Fig. 2C). 잣나무의 배유에서는 분해과정이 진행중인 단백과립을 확인할 수 있었으며 단백질기질이 비교적 증식한 단백과립과 스페로솜의 지질

염색반응은 상호 유사하였으나 스페로솜은 균일한 염색상으로 인하여 쉽게 구분되었다(Fig. 2D). 완두의 자엽세포는 전자밀도가 높은 과립들을 갖고 있었다. 세포내의 단백과립은 단백질기질의 분해로 인하여 염색상이 낮았으며 균일하지 않았다(Fig. 2E). 옥수수 배유에서도 세포내에 산재한 단백질성 물질보다는 스페로솜에 강한 염색반응을 보였다(Fig. 2F).

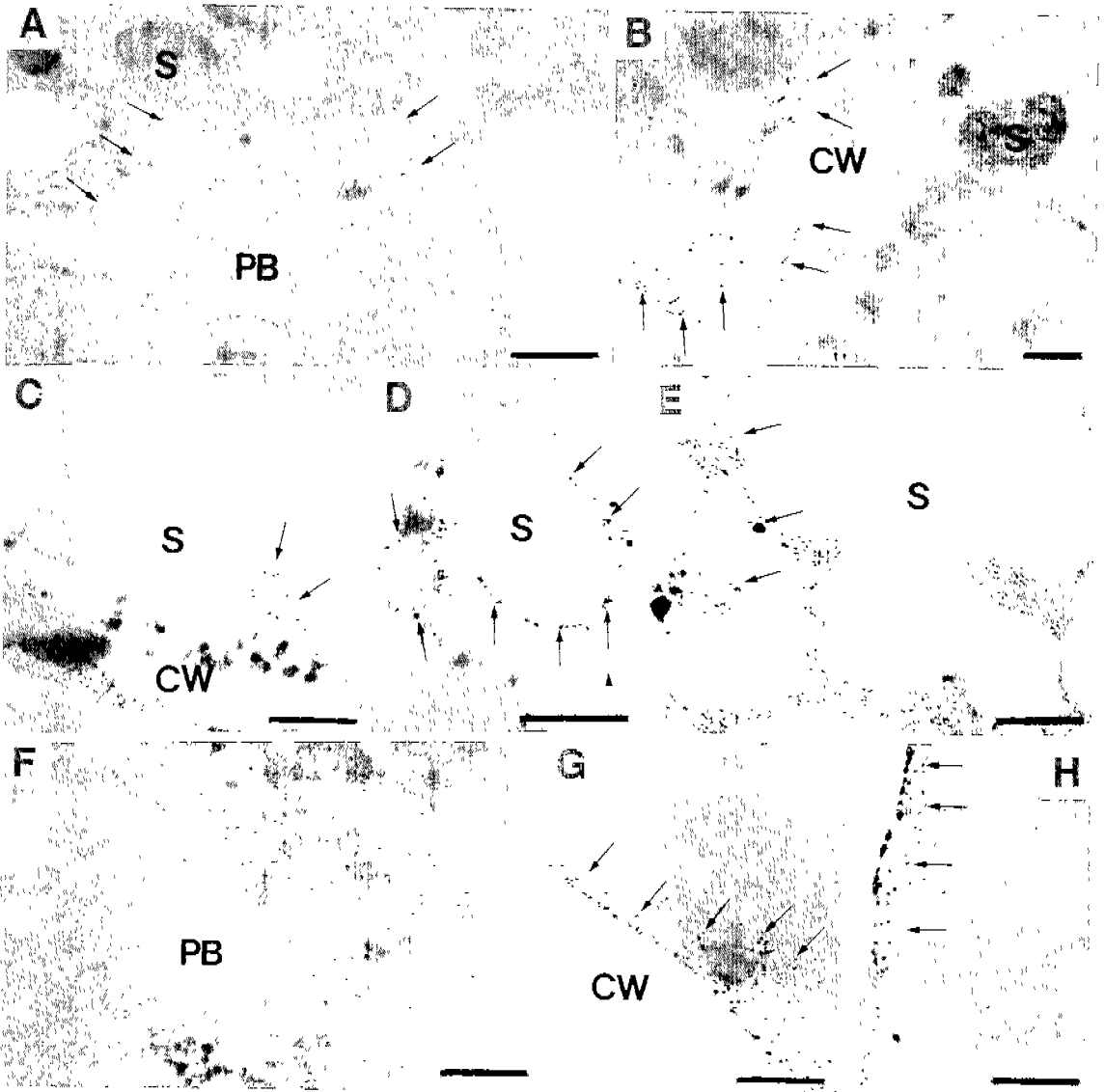


Fig.3. Electron micrographs of cytochemical localization of lipase in storage cotyledon (A-B, F) and endosperm cells (C-E, G-H) of lipid and starch-rich seeds. The cytochemical reaction products (arrows) appear on the inner regions of decomposed spherosomes. After protein bodies are digested, abundant cytochemical reaction products (arrows) were shown in free spherosome surface and near the plasma membrane. But, it shows the absence of cytochemical reaction product in protein bodies. A-B, *Helianthus annuus*; C-D, *Ricinus communis*; E, *Pinus koraiensis*; F, *Pisum sativum*; G-H, *Zea mays*. CW, cell wall; PB, protein body; S, spherosome. Bars indicate 1.0 μ m.

지질가수분해효소(lipase). 지질 및 전분성 종자의 배유와 자엽을 대상으로 전자현미경을 이용한 세포화학적 방법으로 지질가수분해효소의 활성을 관찰한 결과, 새포내 스페로솜은 지질가수분해효소의 활성을 보였으나 단백질과 많은 활성이 나타나지 않았다(Fig.3).

해바라기의 자엽에서 분해과정이 시작되지 않은 스페로

솜은 지질가수분해효소의 활성을 보이지 않았으나 분해과정이 진행되어 기질이 소실된 스페로솜에서는 강한 활성을 보였다. 또한, 원형질막 인접부위에서도 다수의 지질가수분해효소의 반응산물이 관찰되었다(Fig.3A, B). 피마자 배유에서는 그 양상이 해바라기의 자엽세포와 유사하였으나(Fig.3C), 이외는 대조적으로 분해 초기단계의 스페로솜의

막 주변부에서 지질가수분해효소의 강한 활성을 보여주는 반응산물이 관찰되었다(Fig. 3D). 또한, 잣나무의 배유에서도 다양한 분해양상을 보이는 스페로솜은 강한 활성을 보였으나(Fig. 3E), 완두의 자엽세포에서는 거의 이들의 활성이 나타나지 않았다(Fig. 3F). 옥수수의 배유세포는 원형질막과 인접하여 위치한 지질소구에 지질가수분해효소의 강한 활성을 보였다. 또한, 스페로솜의 분해물질은 원형질막 쪽으로 이동하여 축적되었으며 이들이 축적된 부위에서도 지질가수분해효소의 강한 활성을 보여주는 반응산물이 관찰되었다(Fig. 3G, H).

고 찰

Frey-Wyssling 등(1963)은 세포질 내의 액포 부위를 스페로솜이라고 보고한 이래 목화(Yatsu, 1965; Engleman, 1966)와 Yucca(Horner and Arnott, 1966)에서 각각 스페로솜의 존재가 확인되었다. 지질의 저장부위인 한계막성 스페로솜은 각종 식물종자의 호분층(Van der Eb and Nieuwdorp, 1967; Jones, 1969; Buckhout and Morré, 1982), 배유(Vigil, 1970; Lott and Buttrose, 1978; Kim *et al.*, 1979; Dwart and Ashford, 1982; Kim, 1984; Yu, 1991), 배반(Nieuwdorp, 1967; Jones, 1969; Swift and O'Brien, 1972), 자엽(Paulson and Srivastava, 1968; Lott *et al.*, 1971; Lott and Buttrose, 1978; Kim *et al.*, 1979) 등에서 확인되었다. 스페로솜은 2.5-4.0 nm의 두께를 갖고 단일막으로 한계되는 구형 소체로서(Jack *et al.*, 1967; Stein and Stein, 1967), 이들은 지질(Perner, 1953; Jarosch, 1961; Jack *et al.*, 1967)과 단백질(Yatsu *et al.*, 1971)을 함유하고 있으며, 땅콩 자엽의 스페로솜에 함유된 지질은 스페로솜 건량의 98% 이상을 차지하는 등(Jack *et al.*, 1967), 스페로솜은 지질의 세포내 저장소로서의 기능을 하나, 일부 식물의 종자에서 나타나는 대형의 oil body와는 형태와 기원이 다르다는 견해도 보고되었다(Jelsema *et al.*, 1980).

본 연구결과 채종후의 지질 및 전분성 종자의 배유 및 자엽세포에 널리 분포하는 구형의 지질소구인 스페로솜들은 염색상이 낮았으며, 특히 해바라기의 자엽세포에서는 이들의 막과 내질의 염색상의 차이를 보임으로써 스페로솜의 막은 단백질 혹은 단백질과 지질로 구성된다고 보고 하였던 Murray(1984)와 Yu 등(1992)의 견해와 같이 스페로솜의 막성분은 지질 외에도 단백질이 존재하는 것으로 사료된다. 아울러 이러한 견해는 세포화학적 연구결과 스페로솜은 지질과 단백질을 함유하나 탄수화물은 갖지 않는다는 여러 연구결과(Perner, 1953; Jarosch, 1961; Sorokin and Sorokin, 1966; Yatsu *et al.*, 1971)와도 일치하는 것이다. 또한, 지질성 종자의 배유 및 자엽세포의 대부분은 스페로솜이 점유하고 있었으나, 전분성 종자의 배유 및

자엽세포내에는 스페로솜이 드물게 분포하든가(완두), 스페로솜보다는 대형의 전분과립들이 세포의 대부분을 차지하는 등(옥수수), 지질 및 전분성 종자간의 미세구조적인 특징을 나타내고 있음을 알 수 있었다.

일반적으로 세포내 저장 지질은 세포질에서 직접 형성되거나(Esau, 1965), 세포내소기관인 소포체(Stein and Stein, 1967), 색소체(Mollenhauer and Totten, 1971a), 그리고 미토콘드리아(Stein and Stein, 1967) 등에서 형성되어 원형질막이나 소포체의 막에 의해 둘러싸인다는 견해가 보고되었으나, 인삼종자의 경우 배유내 스페로솜의 형성에는 디티오솜이 관여하며(Yu and Kim, 1991), 반면에 피마자 배유의 인지질은 소포체에 의해 형성된다고 하였다(Moore *et al.*, 1973; Moore, 1976; Sexton and Moore, 1978). 또한, 완두와 강낭콩의 자엽내에 나타나는 지질 소구는 소포체와 디티오솜에 의해 형성되며 색소체 및 원형질막과 기능적인 관련을 가진다고 하는 등(Mollenhauer and Totten, 1971a, b) 지질소구인 스페로솜의 형성과정은 종에 따라 다른 견해를 보이고 있다.

본 연구결과 활면소포체에서 형성되어 방출된 소포들과 스페로솜의 초기 단계로 여겨지는 전자밀도가 낮은 막성의 과립들은 염색상이 스페로솜의 그것과 동일하게 관찰되는 것으로 보아 스페로솜은 활면소포체에서 형성되는 것으로 생각된다. 반면에 이와는 상이하게 원형질막의 인접부위에서 관찰되는 높은 전자밀도를 갖는 과립들과 특히 단백질 과립이 세포내 대부분을 차지하는 완두의 자엽세포의 경우 조면소포체에서 방출된 전자밀도가 높은 과립들이 관찰되는 것으로 보아 조면소포체는 단백질성 물질을 합성하여 방출하는 것으로 사료된다.

종자의 발생과정에 생성되어 발아과정에 이용되는 대부분의 종자내의 스페로솜은 지질과 단백질로 구성됨이 보고되었으나(Perner, 1953; Jarosch, 1961; Sorokin and Sorokin, 1966; Yatsu *et al.*, 1971; Murray, 1984), 일반적인 미세구조상으로 이들을 확인함에 있어 부족함이 많았다. 반면에 세포화학적 방법을 이용하여 인삼종자는 저장물질로 단백질과 지질을 저장하는 지방성 종자라고 보고한 이래(Kim *et al.*, 1979; Kim, 1984), 지질염색법과 지질가수분해효소를 이용한 배유세포내의 지질의 분포가 확인되었다(Yu *et al.*, 1992).

전자현미경을 이용한 미세구조의 관찰에 있어서 지질은 전자밀도가 낮게 관찰되는데, 지질염색법(Wigglesworth, 1975, 1981)은 조직을 전·후고정한 후, thymol을 처리함으로써 단백질이나 다른 성분으로 가려 있는 지질을 노출시킨 다음, 이중결합을 가진 farnesol을 처리하여 오스뮴 산과의 친화력을 높임으로써 오스뮴산으로 인한 염색상을 향상시키게 된다. 지질 및 전분성 배유 및 자엽을 대상으로 이러한 지질염색반응을 시행한 결과, 일반적인 미세구조의

염색상과는 상이하게 단백질성 과립보다는 구형의 스페로솜의 전자밀도가 높고 균일함이 확인되어 스페로솜의 주요 구성성분은 지질임을 알 수 있었다. 또한, 스페로솜은 인접한 활면소포체에서 방출된 소포와 염색상이 동일하게 나타남으로써 상호 관련성과 함께 앞에서 언급한 바와 같이 스페로솜이 활면소포체에서 형성된다는 견해를 뒷받침해 주는 것으로 생각된다.

지질을 저장하는 스페로솜은 배유세포의 퇴화 및 발아 시기에 점차 감소하며(Van der Eb and Nieuwdrop, 1967; Okamoto *et al.*, 1982), 발아시에 배유내 단백질과립은 융합되고 확장되는 반면, 스페로솜은 상대적으로 감소되거나(Kim *et al.*, 1979), 크기가 작아져서 결국 없어지는 것으로 알려져 왔다(Vigil, 1970).

본 연구에서도 미개갑 종자의 배유 및 자엽내 스페로솜은 단백질과립과 함께 점차적으로 분해되어 감소함이 확인되어 이들의 견해와 일치하였으며, 스페로솜이 지질의 세포내 저장기관으로서의 역할을 수행한다는 견해(Van der Eb and Nieuwdrop, 1967; Jelsema *et al.*, 1980)와도 일치하는 등 스페로솜은 저장단백질의 저장부위인 단백질과립과 함께 배의 발달 및 발아과정에 필요한 영양물질의 저장기능을 수행하는 것으로 생각된다.

종자내에서 활성을 보이는 다양한 가수분해효소는 배발생 또는 발아시 배유, 자엽 등의 저장양분들을 분해시킴으로써, 배로의 이동을 용이하게 하는 것으로 알려져 왔다(Meier and Reid, 1982; Higgins *et al.*, 1982; MacGregor *et al.*, 1984; Nielson and Liener, 1984; Torrent *et al.*, 1989). 지방종자인 *Gossypium hirsutum* 자엽세포의 지질과립은 종자의 미성숙 시기에 형성되어 지질합성을 위한 효소를 함유하며, 발아시 지질은 이 효소들에 의해 분해되어 에너지원으로 사용된다고 보고되었다(Yatsu, 1965). 또한, 피마자를 대상으로 수행된 세포화학적 연구에서 지질가수분해효소의 활성부위는 스페로솜 표면이며(Ory *et al.*, 1968; Murray, 1984), 이러한 가수분해효소를 함유한 스페로솜은 동물세포의 리소솜과 같은 기능을 한다는 견해도 보고되었다(Matile, 1968). 종자의 성숙시기 동안 지질가수분해효소는 활성을 보이지 않음으로써 스페로솜의 자가분해를 억제하나 이 기작은 알려지지 않았으며, 지질가수분해효소의 활성은 대부분의 스페로솜이 완전히 분해되기 전인 발아 후에 이르면 점진적으로 감소된다는 실험 결과도 보고되었다(Murray, 1984).

전자현미경을 이용한 세포화학적 방법으로 지질가수분해효소의 활성을 관찰한 결과, 세포내 스페로솜은 지질가수분해효소의 활성을 보였으나 단백질과립에는 활성이 나타나지 않았다. 분해과정이 진행되어 기질이 분해, 소실된 스페로솜(해바라기, 피마자, 잣, 옥수수)과 분해 초기단계의

스페로솜의 막 주변부(피마자, 잣), 원형질막 부근에서 강한 활성이 확인되는 등 Ory 등(1968)과 Murray(1984)의 보고와 일치하였다. 또한, 배유 및 자엽의 퇴화과정에 함께 지질가수분해효소의 활성이 관찰되었으며, 이에 따라 스페로솜의 분해양상과 분해물질의 이동이 확인되는 것으로 보아 종자의 배발달 과정 동안 저장물질이 배유 및 자엽으로부터 배로 활발히 이동되는 시기에 지질소구인 스페로솜도 지질가수분해효소에 의해 분해되는 것으로 사료된다. 아울러 종자의 채종시기 이전에 이미 저장물질의 합성의 완료와 함께 이에 관여하는 세포내소기관은 점진적으로 감소하거나 세포내 저장기관인 단백질과립이나 스페로솜에 매몰되어 관찰할 수 없었으며, 채종후에는 배발달에 따른 영양물질의 공급으로 인하여 이미 배유나 자엽의 퇴행에 따른 저장물질의 분해가 진행되고 있음이 확인되는 것으로 보아 지질종자내의 식물성 지방과 기름을 포함한 지질구성분의 습득에 있어 가장 적절한 채종시기는 종자가 완전히 성숙한 시기 이전으로 사료되나, 이에 대한 지식은 앞으로 종자의 형성으로부터 발아에 이르는 일련의 과정 동안 저장물질의 합성 및 분해에 따른 배유 혹은 자엽의 구조적인 변화과정을 조사하며 이를 기초로 방사성 동위원소를 이용한 자기방사법이나 면역세포화학적 방법을 이용한 연구가 병행되어야 할 것으로 사료된다.

적 요

지질성 종자(해바라기, 피마자, 잣나무)와 전분성 종자(완두, 옥수수)를 대상으로 배유와 자엽세포내의 저장지질의 형성, 분포 및 구조적 변화 등과 지질가수분해효소의 활성부위 및 세포내 분포양상 등을 세포화학적 방법을 이용하여 조사하였다. 채종후의 지질 및 전분성 종자의 배유와 저장성 자엽세포에는 구형의 단백질과립과 지질소구인 스페로솜, 전분과립 등의 저장물질이 널리 분포하였으며 세포내소기관은 드물게 관찰되었다. 활면소포체에서 형성되어 방출된 소포들과 스페로솜의 초기 단계로 여겨지는, 전자밀도가 낮은 막성의 과립들은 염색상이 스페로솜의 그것과 동일하였다. 조면소포체에서 방출된 전자밀도가 높은 과립들은 원형질막의 인접부위에서 관찰되었다. 지질염색반응 결과, 일반적인 미세구조의 염색상과는 상이하게 단백질과립내의 단백질기질보다는 구형의 스페로솜의 전자밀도가 높고 균일함이 확인되어 스페로솜의 주요 구성성분은 지질임을 알 수 있었다. 스페로솜과 활면소포체에서 방출하는 물질을 함유한 소포는 염색상이 동일하였다. 지질가수분해효소는 분해과정이 진행중인 스페로솜의 기질과 막 주변부, 그리고 원형질막 부근에서 강한 활성을 보였다.

참 고 문 헌

- Buckhout, T.J. and D.J. Morr . 1982. An ultrastructural analysis of aleurone cells. *Bot. Gaz.* **143**: 156-163.
- Dwarte, D. and A. E. Ashford. 1982. The chemistry and microstructure of protein bodies in celery endosperm. *Bot. Gaz.* **143**: 164-175.
- Engleman, E.M. 1966. Ontogeny of aleurone grains in cotton embryo. *Am. J. Bot.* **53**: 231-237.
- Esau, K. 1965. Plant Anatomy. John Wiley and Sons Inc., New York. 767 pp.
- Frey-Wyssling, A., E. Grieshaber and K. M lethaler. 1963. Origin of spherosomes in plant cells. *J. Ultrastruct. Res.* **8**: 506-516.
- Higgins, T.J.V., J.V. Jacobsen and J.A. Zwar. 1982. Gibberellic acid and abscisic acid modulate protein synthesis and mRNA levels in barley aleurone layers. *Plant Mol. Biol.* **1**: 191-215.
- Horner, H.T.Jr. and H.J. Arnott. 1966. A histochemical and ultrastructural study of pre and post-germinated *Yucca* seeds. *Bot. Gaz.* **127**: 48-64.
- Jack, T.J., L.Y. Yatsu and A.M. Altschul. 1967. Isolation and characterization of peanut spherosomes. *Plant Physiol.* **42**: 585-597.
- Jarosch, R. 1961. Das characeen-protoplasma und seine inhaltsk rper. *Protoplasma* **53**: 34-56.
- Jelsema, C.L., M.J. Powell, D.J. Morr , M. Ruddat and H.H. Mollenhauer. 1980. Isolation of lamellar bodies from aleurone layers of wheat grains. *Bot. Gaz.* **141**: 139-148.
- Jones, R.L. 1969. The fine structure of barley aleurone cells. *Planta* **85**: 359-375.
- Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **27**: 137-138.
- Kim, W.K. 1984. Ultrastructural and histochemical studies of the ginseng seed. Matured endosperm cells. *Korean J. Electron Microscopy* **14**: 15-28.
- Kim, W.K., H.D. Park, E.S. Kim and S.S. Han. 1979. Ultrastructural changes during germination of ginseng seeds (*Panax ginseng*). *Korean J. Electron Microscopy* **9**: 57-64.
- Lott, J.N.A. and M.S. Buttrose. 1978. Thin sectioning, freeze fracturing, energy dispersive X-ray analysis and chemical analysis in the study of inclusions in seed protein bodies. *Can. J. Bot.* **56**: 2050-2061.
- Lott, J.N.A., P.L. Larsen and J.J. Darly. 1971. Protein bodies from the cotyledons of *Cucurbita maxima*. *Can. J. Bot.* **49**: 1777-1782.
- MacGregor, A.W., F.H. MacDougall, C. Mayer and J. Dausant. 1984. Changes in levels of α -amylase components in barley tissues during germination and early seedling growth. *Plant Physiol.* **75**: 203-206.
- Matile, P. 1968. Aleurone vacuoles as lysosomes. *Z. Pflanzphysiol.* **58**: 365-368.
- Meier, H. and J.S.G. Reid. 1982. Reserve polysaccharides other than starch in higher plants. In, Encyclopedia of Plant Physiology, F.A. Loewus and W. Tanner (eds.). Vol. 13A, Plant carbohydrates. Springer-Verlag, Berlin, New York. pp. 418-471.
- Mollenhauer, H.H. and C. Totten. 1971a. Studies on seeds. II. Origin and degradation of lipid vesicles in pea and bean cotyledons. *J. Cell Biol.* **48**: 395-495.
- Mollenhauer, H.H. and C. Totten. 1971b. Studies on seeds. III. Isolation and structure of lipid-containing vesicles. *J. Cell Biol.* **48**: 533-541.
- Moore, T.S.Jr. 1976. Phosphatidylcholine synthesis in castor bean endosperm. *Plant Physiol.* **57**: 383-386.
- Moore, T.S.Jr., J.M. Lord, T. Kagawa and H. Beevers. 1973. Enzymes of phospholipid metabolism in the endoplasmic reticulum of castor bean endosperm. *Plant Physiol.* **52**: 50-53.
- Murray, D.R. 1984. Accumulation of seed reserves of nitrogen. In, Seed Biology, Vol. 1, Development, D.R. Murray (ed.). Academic Press, New York. pp. 108-117.
- Nagata, T. 1974. Lipase. In, Electron Microscopy of Enzymes, M.A. Hayat (ed.). Vol. 2, Van Nostrand Reinhold Company, New York. pp. 132-148.
- Nielsen, S.S. and I.E. Liener. 1984. Degradation of the major storage protein of *Phaseolus vulgaris* during germination. *Plant Physiol.* **74**: 494-498.
- Nieudorp, P.J. 1967. Electron microscopic structure of the epithelial cells of scutellum of barley. *Acta Bot. Neerl.* **13**: 559-565.
- Okamoto, K., T. Murai, G. Eguchi, M. Okamoto and T. Kazawa. 1982. Enzymic mechanism of starch breakdown in germinating rice seeds. II. Ultrastructural changes in scutellar epithelium. *Plant Physiol.* **70**: 905-911.
- Ory, R.L., L.Y. Yats and H.W. Kircher. 1968. Association of lipase activity with the spherosomes of *Ricinus communis*. *Arch. Biochem. Biophys.* **124**: 255-264.
- Paulson, R.E. and L.M. Srivastava. 1968. The fine structure of the embryo of *Lactuca sativa*. *Can. J. Bot.* **46**: 1437-1445.
- Perner, E.S. 1953. Bie spherosomen (mikrosomen) pflanzlicher zellen. *Protoplasma* **42**: 457-481.
- Sexton, J.C. and T.S. Moore. 1978. Phosphatidylinositol synthesis in castor bean endosperm. Cytidine diphosphate diglyceride: inositol transferase. *Plant Physiol.* **62**: 978-980.
- Sorokin, H.P. and S. Sorokin. 1966. The spherosomes of *Campanula persicifolia* L. A light and electron microscopy study. *Protoplasma* **62**: 216-236.
- Stein, O. and Y. Stein. 1967. Lipid synthesis, intracellular transport, and secretion: Electron microscopic radioautographic study of the mouse lactating mammary gland.

- J. Cell Biol.* **34**: 251.
- Swift, J.G. and T.P. O'Brien. 1972. The fine structure of the wheat scutellum before germination. *Aust. J. Biol. Sci.* **25**: 9-22.
- Torrent, M., I. Geli and M.D. Ludevid. 1989. Storage-protein hydrolysis and protein-body breakdown in germinated *Zea mays* L. seeds. *Planta* **180**: 90-95.
- Van der Eb, A.A. and P.J. Nieuwdorp. 1967. Electron microscopic structure of the aleurone cells of barley during germination. *Acta Botanica Neerlandica* **15**: 690-699.
- Vigil, E.L. 1970. Cytochemical and developmental changes in microbodies (glyoxysomes) and related organelles of castor bean endosperm. *J. Cell Biol.* **46**: 435-454.
- Wigglesworth, V.B. 1971. Bound lipid in the tissues of mammal and insect: a new histochemical method. *J. Cell Sci.* **8**: 709-725.
- Wigglesworth, V.B. 1975. Lipid staining for the electron microscope: a new method. *J. Cell Sci.* **19**: 439-457.
- Wigglesworth, V.B. 1981. The distribution of lipid in the cell structure: an improved method for the electron microscope. *Tissue and Cell* **13**: 19-34.
- Wigglesworth, V.B. 1985. The transfer of lipid in insects from the epidermal cells to the cuticle. *Tissue and Cell* **17**: 249-265.
- Yatsu, L.Y. 1965. The ultrastructure of cotyledonary tissues from *Gossypium hirsutum* L. seed. *J. Cell Biol.* **25**: 193-199.
- Yatsu, L.Y., T.J. Jack and T.P. Hensarling. 1971. Isolation of spherosomes (oleosomes) from onion, cabbage, and cotton-seed tissues. *Plant Physiol.* **48**: 675-682.
- Yu, S.C. 1991. Structural and functional changes of endosperm cells in *Panax ginseng* during seed formation and after-ripening. Ph.D. thesis. Korea University. 103 pp.
- Yu, S.C. and W.K. Kim. 1991. Formation of dictyosome and spherosome in endosperm cells of *Panax ginseng* during seed formation. *Korean J. Electron Microscopy* **21**: 117-125.
- Yu, S.C., M.J. No, C.S. Lee and W.K. Kim. 1992. Lipid and lipase distribution on endosperm cell of *Panax ginseng* seed for the electron microscope. *Korean J. Ginseng Sci.* **16**: In Press.

(1992. 6. 30 接受)