

쌀 배유세포 전분복합체와 단백질체의 미세구조

김성곤* · 장병수¹ · 이수정

단국대학교 식품영양학과, ¹동남보건전문대학

초록 : 조생종 쌀인 오대벼 품종을 대상으로 종자의 배유세포에 있는 전분복합체와 단백질체의 외부형태 및 미세구조의 특징을 광학현미경과 전자현미경으로 관찰하였다. 배유세포는 긴 막대모양으로 세로 단면이 장방형 또는 마름모형을 하고 있고, 세포벽은 $0.5 \mu\text{m}$ 의 두께로 균질한 막상 구조물로 이루어져 있다. 또한, 세포내에는 구형 또는 타원형의 전분복합체가 치밀하게 채워져 있으며, 직경이 $18\sim25 \mu\text{m}$ 로 다양한 크기로 존재하였다. 전분복합체는 12면체 또는 14면체의 중앙 전분과립을 중심으로 약 $5 \mu\text{m}$ 크기의 전분과립들이 동심원상으로 2 내지 3층으로 형성되어 있다. 배유세포에서 단백질체는 호분층에서 보다 아주 드물게 관찰되었지만, 전분복합체의 주변에 인접하여 산재하고 있다. 단백질체는 직경이 약 $3 \mu\text{m}$ 로 구형 또는 난원형의 형태를 하고 있으며, 미세구조적으로 중심부는 전자밀도가 높게, 한계막의 주변부는 비교적 전자밀도가 낮게 관찰되었다.(1996년 7월 2일 접수, 1996년 8월 5일 수리)

서 론

쌀은 중요한 식량자원으로서 최근까지 물리화학적 특성,^{1,2)} 생화학적 변화,^{3,4)} 조직화학적 특성^{5,6)} 및 미세구조^{7,8)} 등에 관하여 다양한 실험방법으로 연구가 진행되어 왔다. 쌀의 성분은 전분과 단백질 그리고 소량의 지질 등으로 구성되어 있다.⁹⁾ 전분은 종자 건조중량의 약 90% 이상을 차지하고 있으며 amylopectin과 amylose가 선상으로 배열된 D-glucose 하단위체로서 glucan 형태의 다당류이다. 종자가 수정된 후 성숙과정에서 배유세포는 amyloplast를 형성하여 다양한 크기와 모양의 전분입자를 가지게 된다. 전분의 합성은 배유 전분세포에서 커다란 복합 전분과립으로 형성되며 각각의 전분과립(starch granule)들이 축적되어 전분복합체(compound starch granule)를 형성한다. 그러나 전분복합체의 형태학적 특징 및 이것을 구성하는 전분과립의 외부형태와 미세구조적인 연구는 He 등⁹⁾과 일부 학자들^{10,11)}에 의한 연구보고만 있을 뿐 아직까지 미흡한 실정이다.

단백질체(protein body)는 쌀의 건조 중량에 7 내지 11% 정도를 차지하고 있으며 조면소포체(rough endoplasmic reticulum)에서 합성되어 소포체의 막이 확장되면서 형성된다.¹²⁾ 단백질체는 gluterin, globulin, albumin, prolamin의 4종류 단백질로 구성되어 있으며, 이들은 각각 서로 다른 용매에 용해된다. Albumin은 수용성이고, gluterin은 알칼리용해성이고 globulin은 염용해성이고, prolamin은 알콜용해성으로 각각 다른 성질을 나타낸다.⁵⁾

단백질체는 주로 호분층(aleurone layer)에 분포하고 있고 전분세포에는 약간 존재하고 있다. 호분층에서 중요한 저장산물은 지방체(lipid body)와 저장단백질(storage pro-

tein)이다. 지금까지 보고된 바에 의하면 호분세포에서 주로 합성되는 단백질체는 종자의 종류에 따라 미세구조적으로 무정형(amorphous)과 결정형(crystalline)의 형태로 존재한다.^{11,13)} 무정형의 단백질체는 지방체(lipid body)와 형태적으로 크기가 비슷하고, 결정형의 단백질체는 구형의 형태로 소포내에 존재한다. 배유의 전분세포에 존재하고 있는 단백질체는 호분층에 존재하는 무정형의 단백질체와 비슷한 특징을 나타낸다. 그러나 호분층세포에서 발견되는 단백질체는 크기나, 염색상의 특성, 미세구조적 차이 등이 다양하게 보고되고 있어 아직 논란의 여지가 있다.¹⁵⁾

본 실험실에서는 숙기별 쌀품종의 품질특성을 연구하고 있다. 본 연구는 이러한 시도의 일부로서 우선 조생종인 오대벼 쌀 종자를 대상으로 배유 전분세포의 전분복합체와 단백질체의 형태적인 특징과 미세구조적인 특징을 광학 및 전자현미경을 사용하여 규명하고자 한다. 벼는 농촌진흥청의 기준에 따라 도정한 다음 백미를 시료로 사용하였다.

재료 및 방법

광학 및 투과전자현미경 관찰

시료를 2.5% paraformaldehyde/glutaraldehyde(4°C, phosphate buffer, pH 6.8)로 2시간 처리하여 전고정(prefixation)한 다음, 완충용액(0.4 M phosphate buffer, 4°C, pH 6.8)으로 10분씩 3회 세척하였으며, 1% OsO₄(4°C, phosphate buffer)로 1시간 후고정(postfixation)하였다. 고정이 끝난 재료는 동일 완충용액으로 수회 세척한 후, ethanol 농도 상승순으로 탈수하였으며, propylene oxide로 치환하여 Epon-Araldite 혼합액에 포매한 다음, 60°C va-

찾는말 : 쌀, 전분복합체, 단백질체, 미세구조

*연락처자

cuum drying oven에서 36시간 중합반응시켰다. 포매된 재료를 초박절편기(LKB-2088 ultramicrotome)를 사용하여 1~2 μm 두께의 준초박절편을 만들어 1% toluidine blue로 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다. 이어서 두께 60 nm의 은색절편을 제작하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색한 다음, JEOL100CX-II형 투과전자현미경으로 100 kV에서 200메쉬 grid에 올려 놓고 관찰하였다.

주사전자현미경 관찰

재료를 ethanol 농도 상승순으로 탈수한 다음, isoamyl acetate로 치환하여 액화이산화탄소를 이용한 임계점건조기(critical point dryer)에서 건조시켰다. 건조된 재료를 JFC-1100 ion coater를 사용하여 20 nm 두께로 금피막(gold ion coating)을 입힌 후, JSM-840A형 주사전자현미경으로 20 kV에서 관찰하였다.

결 과

도정된 쌀을 가로로 절단하여 관찰한 결과 단면의 장축 직경은 약 3.2 mm의 크기를 나타냈으며 모양은 약간 신장된 타원형의 형태로 관찰되었다. 또한, 배유조직은 전분세포들에 의해서 치밀하게 채워져 있고, 일부 부숴진 전분세포에는 많은 전분복합체들이 노출되어 있었다(Fig. 1). 전분복합체는 배유조직의 부위에 따라 분포양상과 크기가 다르게 관찰되었는데, 배유의 중심부위와 호분층이 있는 바깥부위에서 그 분포와 크기가 현저하게 차이가 있는 것으로 나타났다(Figs. 2, 3). 주사전자현미경상에서 전분복합체의 분포양상을 관찰해 볼 때 배유 중앙의 전분세포에서는 전분과립이 완전히 성숙되어 채워져 있으나, 호분층과 인접한 바깥부위에서는 전분복합체가 성글게 형성되어 있었다. 또한, 전분과립의 크기도 존재위치에 따라 차이가 있는 것으로 나타났는데 배유 중앙부위 세포에 있는 전분과립은 바깥부위에 있는 세포의 과립보다 약 2배 정도 크게 성숙되어 있는 것이 관찰되었다(Fig. 2). 광학현미경상의 조직표본에서

도 배유조직 중심부위의 전분세포는 전분복합체들에 의해서 치밀하게 채워져 있었으며, 호분층과 인접된 부위에서는 전분세포는 전분과립들이 산재하여 있었고 주변 세포질에는 단백질체가 존재하고 있는 것이 관찰되었다(Fig. 3).

광학현미경 조직표본에서 배유의 성숙된 전분세포들은 치밀하게 배열되어 있었고, 세포의 크기는 장축 직경이 약 300~500 μm로 다양하였으며, 단축 단면의 모양은 축적된 전분복합체의 양과 성숙시기에 따라서 장방형 또는 5각형의 형태를 하고 있었다. 전분세포는 다양한 크기의 전분복합체들에 의해서 채워져 있었다. 조직절편상에서 전분복합체는 원형이나 타원형이었고, 전분과립들이 중앙전분과립을 중심으로 해서 동심원상으로 2층 내지 3층으로 적층되어 있었고, 한개의 전분복합체는 5 내지 15개의 전분과립들로 구성되어 있었다(Fig. 4).

주사전자현미경상에서 전분복합체의 외부형태는 구형이었으며 인접된 전분복합체들의 밀착연접에 의해서 한계막부위는 접촉부위에 따라 납작해지거나 핵몰되어서 관찰되

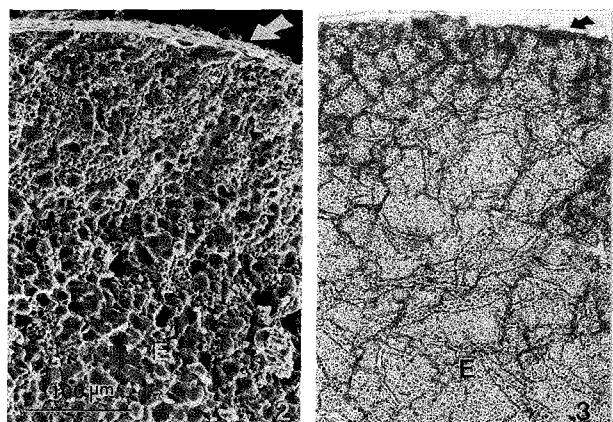


Fig. 1. Scanning electron micrograph of the entire fracture face of a Odaebyeo rice seed.

Fig. 2. Scanning electron micrograph of the endosperm(E) showing numerous broken compound starch granules.

Fig. 3. Light micrograph of the endosperm(E). The compound starch granules are more tightly packed in central than peripheral endosperm cell(arrow). ×1000.

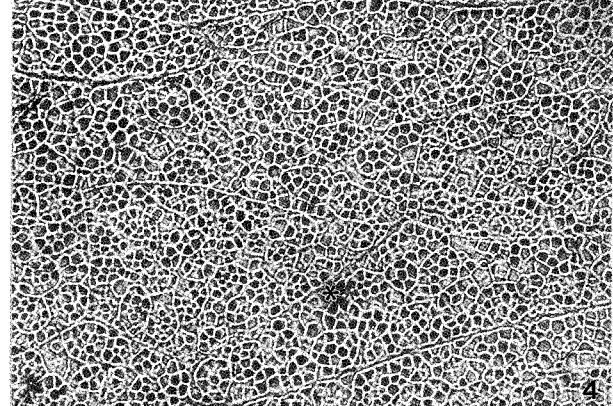


Fig. 4. Light micrograph of central endosperm starch cells with compact arrangement of compound starch granules. Note that polygonal nature of starch cells and the compound starch granules with tightly packed starch granules. Star: cell wall ×2000.

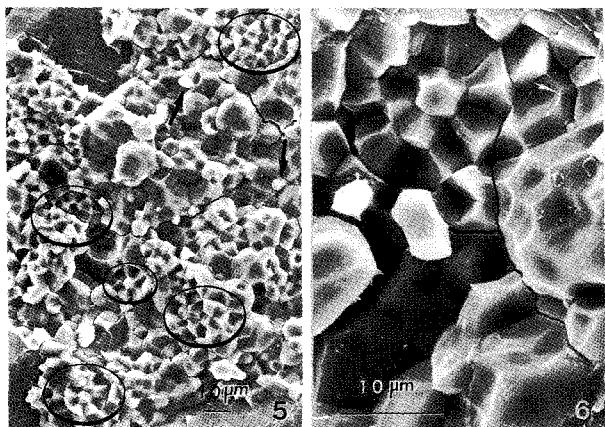


Fig. 5. Scanning electron micrograph of middle region in endosperm tissue showing the large number of broken compound starch granules(circles) and the protein bodies(arrows).

Fig. 6. High magnification scanning electron micrograph of a compound starch granule showing tightly packed with polygonal starch granules. The polygonal starch granules are 5 μm in diameter.

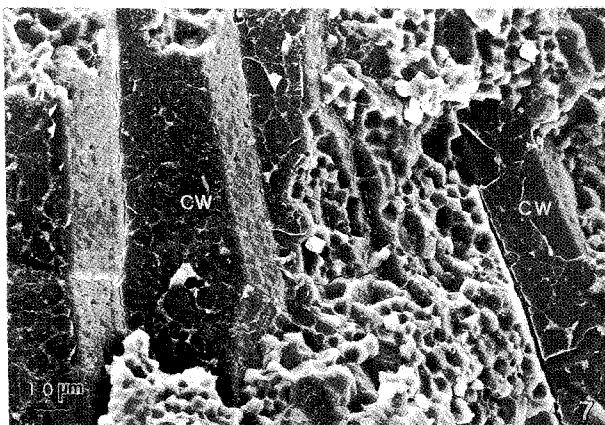


Fig. 7. Scanning electron micrograph of endosperm showing cell wall (CW) and aggregations of starch granules.

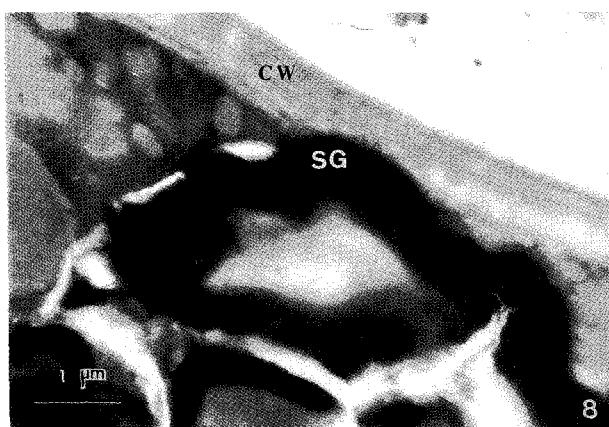


Fig. 8. Transmission electron micrograph of starch cell showing starch granules(SG) and cell wall(CW). The average thickness of the cell wall is about 0.5 μm .

었다. 또한, 재료 처리과정에서 쪼개진 전분복합체는 중앙 전분과립을 중심으로 과립들이 방사상으로 배열되어 있는 것이 뚜렷하게 관찰되었고 근접한 부위에는 단백질체가 산

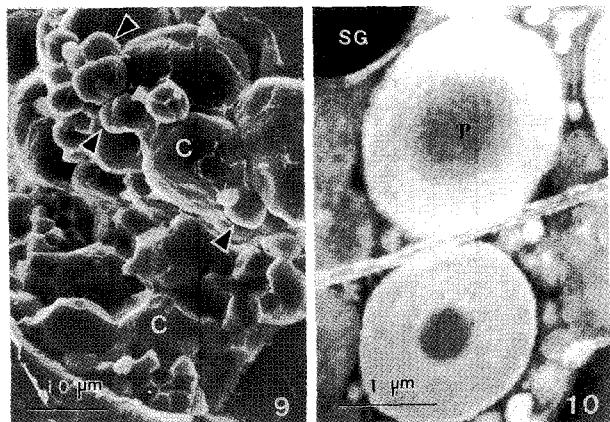


Fig. 9. Scanning electron micrograph of endosperm. Note the protein bodies(arrowheads) near the compound starch granule(C).

Fig. 10. Transmission electron micrograph protein bodies(P) in starch cell. Note central dark and peripheral light portion pattern. SG: starch granule.

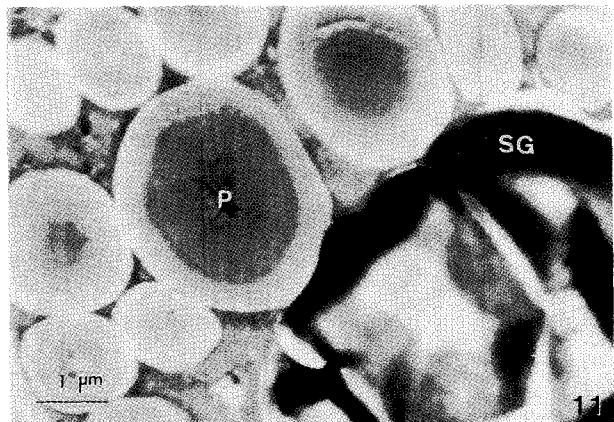


Fig. 11. High magnification electron micrograph of protein bodies(P) in starch cell. Protein bodies are globular shape and 2.5~3 μm in diameter. SG: starch granule.

재되어 있었다(Fig. 5). 고배율의 주사전자현미경상에서 전분복합체는 크기가 약 18~25 μm 정도로 중앙에 정 14면체의 전분과립을 중심으로 많은 전분과립들이 방사상으로 치밀하게 부착되어 있었다. 전분복합체에서 중앙전분과립을 제외한 동심원상으로 축적되어 있는 전분과립들의 모양은 다각형의 형태로 전분복합체의 크기와 성숙정도에 따라 다양하였으나, 대체로 6각형 내지 8각형의 형태를 유지하였고, 그 크기는 직경이 약 5 μm 로 나타났다(Fig. 6).

한편, 전분세포의 외부형태는 막대형으로서 세포벽은 굴곡이 없는 매끄러운 구조를 하고 있었다. 이와같은 구조를 주사전자현미경으로 관찰하였을 때 세포벽의 표면은 마치 피라미드형의 지붕이 연속되어 있는 것과 같은 구조로 관찰되었다(Fig. 7).

투과전자현미경상에서 전분세포는 주변의 세포들과 치밀하게 인접하여 존재하였고, 세포벽은 균질한 막성 물질로 이루어져 있으며, 두께는 약 0.5 μm 정도로 나타났다. 세포질에서 전분과립과 단백질체 이외의 다른 세포소기관이나 세포함유물들은 관찰되지 않았다. 전분과립은 미세구조적

으로 오스뮴(osmium)산 친화성에 의해서 전자밀도가 높은 암화된 물질로 관찰되었다(Fig. 8).

전분세포에서 단백질체는 전분복합체의 인접된 부위에 산재하고 있었으며(Fig. 9), 모양은 구형의 형태이고 직경이 약 3 μm 로 관찰되었다(Fig. 11). 미세구조적인 관찰에서 단백질체는 중심부분은 전자밀도가 높은 물질로 구성되어 있는 것으로 나타났고, 바깥 한계막과 인접한 부위는 비교적 전자밀도가 낮은 물질로 구성되어 있는 것으로 관찰되었다(Figs. 10, 11). 또한, 그림 11에서 관찰되는 것과 같이 단백질체는 전분복합체의 한계막과 밀착되어 있어서 구조적으로 전분복합체의 외부표면이 납작해져 있거나 움푹 들어가 있는 것을 확인할 수 있었다.

고 찰

배유 전분세포는 호분층에 둘러싸여 있으며 많은 전분복합체를 함유하고 있다. Park 등¹⁸⁾은 주사전자현미경을 사용하여 전분세포의 형태에 관한 연구에서 세포는 6각형의 막대모양으로 배유의 중앙에서 방사상으로 뻗어있다고 보고하였다. 본 연구에서 광학현미경의 조직표본상에서 전분세포는 단축 단면이 4각형 또는 5각형이었으며, 주사전자현미경상에서 세포벽 표면은 균질하고 매끄러우며 각이진 피라미드형의 막대모양을 하고 있었다.

발아되지 않은 쌀 종자에서 전분복합체와 전분파립의 외부형태와 미세구조적 특징에 관한 연구는 Rosario 등⁶⁾, He 등⁸⁾의 일부학자들에 의한 보고가 있을 뿐 미흡한 실정이다. 본 연구에서 전분복합체의 모양은 구형이나 타원형의 형태이었으나, 한계막과 주변에 존재하는 다른 전분복합체와 단백질체가 밀착되어 있는 곳에서는 전분복합체의 표면이 납작해지거나 움푹 들어가 있는 것이 관찰되었다. 이와 같은 결과는 전분복합체가 성숙과정 중에 이미 형성된 단백질체나 주변의 전분복합체로부터 눌려서 형성된 것으로 사료된다.

또한, 본 연구에서 특징적인 결과는 전분복합체를 구성하는 전분파립의 모양과 형태학적 특성이다. 전분파립은 존재 위치에 따라 두 가지 형태의 모양을 가지고 있다. 전분복합체의 중심에 위치한 중앙전분파립은 정 12면체나 정 14면체를 하고 있으며, 중앙전분파립을 중심으로 2층 내지 3층을 형성하고 있는 개개의 전분파립은 6면체나 8면체의 다각형의 형태로 나타났다.

쌀 종자에서 단백질체는 배유의 호분층에서 주로 발견되고 배유조직의 중앙부위에 전분이 풍부한 곳에서는 드물게 나타난다.⁵⁾ 단백질체의 생성과정은 액포기원,¹⁶⁾ 조면소포체기원,¹⁷⁾ 골지체 기원¹²⁾ 등 학자에 따라 연구 결과가 다르게 보고되어 왔으나, Rosario 등⁶⁾이 쌀(*Oryza sativa*)에 관한 연구와, Larkin과 Hurkman¹⁸⁾이 옥수수에 관한 연구에서 단백질체는 조면소포체에서 합성되고 소조(cisterna) 말단이 신장되면서 형성된 액포(vacuole)내에 존재한다고 보고하였다. 본 연구에서 성숙된 전분세포내에 존재하는 단백질체는 호분층에서 생성되는 단백질체와 달리 공포내에 존재하지 않았으며 세포의 포함물로서 한계막에 둘러싸인 독립

된 단백질체로 존재하였다.

호분층에서 주로 분포하고 있는 단백질체의 크기는 1~2 μm 정도로 모양은 구형의 형태를 하고 있지만, 본 연구에서 전분세포내에서 관찰되는 단백질체는 직경이 약 3 μm 로 비교적 대형이었다. 이와 같은 결과는 단백질체가 주로 호분층에서 주요 저장산물로 다량 존재하지만, 종자가 수정된 후 배유 전분세포에서 단백질체는 전분파립보다 먼저 합성되어 성숙되기 때문에 비교적 크게 존재하는 것으로 사료된다.

단백질체는 무정형이거나 결정형의 구조물을 함유하고 있다.^{13,14)} Graham 등¹⁹⁾은 밀에 관한 연구에서 배유세포의 단백질체는 오스뮴산에 친화성(osmiophilic)을 가지고 있고, 전자밀도가 높은 물질로 구성되어 있음을 전자현미경으로 확인하였으며, *Setaria lutescens*에 관한 연구에서 무정형의 단백질체는 균질한 물질로 채워져 있지만 전자밀도 차에 의해서 동심원상으로 어두운 층과 밝은 층으로 나타난다 보고되었다.³⁾ 오대벼 배유 전분세포에서 단백질체는 Rost³⁾가 보고한 바와 같이 중심부위가 한계막과 인접된 주변부위보다 비교적 전자밀도가 높은 단백질성 물질로 구성되어 있었다.

참 고 문 현

- Juliano, B. O., G. M. Bautista, J. C. Lugay and A. C. Reyes (1964) Studies on the physicochemical properties of rice. *Agri. Food Chem.* **12**, 131-138.
- Lee, Y. E. and E. M. Osman (1991) Physicochemical factors affecting cooking and eating qualities of rice and the ultrastructural changes of rice during cooking. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **20**, 637-645.
- Rost, T. L. (1972) The ultrastructure and physiology of protein bodies and lipids from hydrated dormant and non-dormant embryos of *Setaria lutescens* (Gramineae). *Amer. J. Bot.* **59**, 607-616.
- Tsuge, H., M. Hishida, H. Iwasaki, S. Watanabe and G. Goshima (1990) Enzymatic evaluation for the degree of starch retrogradation in food and foodstuffs. *Starch* **42**, 213-216.
- Juliano, B. O. (1985) Rice Chemistry and Technology. Amer. Assoc. of Cereal Chemists Monographs. St. Paul, Minn. pp. 1-774.
- Rosario, A. R. D., V. P. Briones, A. J. Vidal and B. O. Juliano (1968) Composition and endosperm structure of developing and mature rice kernel. *Cereal Chem.* **45**, 225-235.
- Harris, N. and B. O. Juliano (1977) Ultrastructure of endosperm protein bodies in developing rice grains differing in protein content. *Ann. Bot.* **41**, 1-5.
- He, G. C., H. Suzuki and K. Kogure (1989) Scanning electron microscope observation on the surface of milled rice grains and starch granules of rice. *Denpun Kagaku* **36**, 161-167.
- Buttrose, M. S. and C. Soeffky (1973) Ultrastructure of lipid deposits and other contents in freeze etched coleop-

- tile cells of ungerminated rice grains. *Aust. J. Biol. Sci.* **26**, 357-364.
10. Bechtel, D. B. and Y. Pomeranz (1977) Ultrastructure of the mature ungerminated rice (*Oryza sativa*) caryopsis. The caryopsis coat and the aleurone cells. *Amer. J. Bot.* **64**, 966-973.
 11. Park, K. S., Y. B. Rho and P. B. Kaufman (1988) Structure of seed storage protein and starch grains in the endosperm of rice seeds. *Korean J. Electron Microscopy* **18**, 47-58.
 12. Oparka, K. J. and N. Harris (1982) Rice protein body formation: All types are initiated by the endoplasmic reticulum. *Planta* **154**, 184-188.
 13. Hoshikawa, K. (1970) Studies on the development of endosperm in rice. XXI. Development of protein forming plastids. *Proc. Crop. Sci. Japan* **39**, 295-300.
 14. Bechtel, D. B. and B. O. Juliano (1980) Formation of protein bodies in the starchy endosperm of rice (*Oriza sativa*). A re-investigation. *Ann. Bot.* **45**, 503-509.
 15. Dwarte, D. and A. E. Ashford (1982) The chemistry and microstructure of protein bodies in celery endosperm. *Bot. Gaz.* **143**, 164-175.
 16. Nieudrop, P. J. (1967) Electron microscopic structure of the epithelial cells of the scutellum of barley. *Acta. Bot. Neerl.* **13**, 559-565.
 17. Khoo, U. and M. J. Wolf (1970) Origin and development of protein granules in maize endosperm. *Am. J. Bot.* **57**, 1042-1050.
 18. Larkins, B. A. and W. J. Hurkman (1978) Synthesis and deposition of zein in protein bodies of maize endosperm. *Plant Physiol.* **62**, 256-263.
 19. Graham, J. S. D., A. C. Jennings, R. K. Morton, B. A. Paik and J. K. Raison (1962) Protein bodies and protein synthesis in developing wheat endosperm. *Nature* **196**, 967-976.

Ultrastructure of Compound Starch Granules and Protein Bodies of Starchy Endosperm Cell in Rice

Sung-Kon Kim*, Byung-Soo Chang¹ and Soo-Jeong Lee (Dept. of Food Science and Nutrition, Dankook University, Seoul 140-714, Korea; ¹Dept. of Clinical Pathology, DongNam Health Junior College, Suwon 440-714, Korea)

Abstract : The ultrastructure of the compound starch granules and the protein bodies of Odaebyeo rice of early matured variety were examined by light microscope and electron microscope. The endosperm cell appeared rectangular or octangular shape on the cross section. The thickness of cell wall containing of membranous materials was about 0.5 μm in diameter. The starch cell was filled compactly with globular or oval shaped compound starch granules with the size of 20~25 μm in diameter. The compound starch granules were consisted of central core starch granule and concentrical 2~3 layers of starch granules. The average thickness of the starch granules were about 5 μm . Most protein bodies were found in the aleurone layer. The globular protein bodies were scattered near the compound starch granules and 2.5~3 μm in diameter. The protein bodies composed of central electron dense materials and peripheral electron loose materials in limiting membrane.

*Corresponding author