

엽록소-단백질 복합체 형성에 미치는 IAA와 zeatin의 영향

鄭 忠 德

Effect of IAA and Zeatin of Formation of Chlorophyll-Protein Complex

Chung Choong-duk

Summary

In greening cucumber(*Cucumis sativus* L. cv. Cheongchangmadi) cotyledons during the 12 hour-subsequent continuous illumination with 2,200 lux of white light, effect of IAA and zeatin on formation of chlorophyll-protein complex were observed. Cotyledons excised from dark-grown cucumber seedling were pretreated in dark with 10^{-7} M IAA, 10^{-6} M IAA, 10^{-7} M zeatin, 10^{-6} M zeatin or incubated with water throughout the dark preincubation period. The results obtained from the present work are as follows:

The chlorophyll-protein complex were separated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. Rapid synthesis of a 30,000 dalton light harvesting chlorophyll protein was observed with 10^{-6} M IAA during the 9 hour culture period and 10^{-6} M zeatin during the 6 hour incubation time. The CP1a+CP1/C-P complex ratio was gradually increased from 2 to 8 hour but decreased from 8 hour by increasing light harvesting chlorophyll protein. The more rapid decreased was observed with 10^{-6} M zeatin, the minimal value of 35.2 elution volume/elution volume in the 12 hours.

The data suggest that IAA and zeatin have an influence on the formation of chlorophyll-protein complex.

서 론

식물체내에서 엽록소와 단백질은 서로 결합되어

엽록소-단백질 복합체로 thylakoid막의 일부를 이루고 있으며(Markwell et al., 1979, 1985) 이들 각각의 엽록소-단백질 복합체에 대한 연구는 많이 이루어지고 있으나 아직까지 이에 대한 용어는

師範大學 助教授

일치되지 않고 있다(Hiller and Goodchild, 1981).

그리고 엽록소-단백질 복합체인 분석실험은 많은 종류의 식물에서 행하여졌으며(Bar-Nun et al., 1977; Henriques and Park, 1977; Scott and Gregory, 1975) thylakoid 막을 추출하는 방법(Apel et al., 1975; Brandt et al., 1983; Genge et al., 1974; Stephens, 1975; Brown, 1977; Krishnan and Gnanam, 1979)과 detergent의 종류도 다양하게 보고되고 있다.

Anderson 등(1978)은 보리와 시금치 잎의 thylakoid막에서 SDS 또는 Triton X-100을 사용, 엽록소-단백질 복합체를 추출하여 전기영동을 한 후에 각 엽록소-단백질 복합체를 분자량이 큰 쪽에서부터 CP1a, CP1, LHCP1, LHCP2, CPa와 LHCP3로 부르고 freepigment까지 전개된 양상을 densitometer로 흡광도를 조사하여 SDS와 Triton X-100 사용 시 나타나는 결과를 비교하였는데, 전체 엽록소 중 약 22-28%가 CP1a와 CP1에, 52-58%가 LHCP1 LHCP2 및 LHCP3에, 10%는 CPa에, 그리고 10% 정도가 유리상태의 엽록소로 있다고 하였다.

이러한 결과로 볼 때에 50% 이상의 엽록소는 LHCP1, LHCP2와 LHCP3에 있다는 것을 알 수 있다.

또한 광합성의 PS I의 반응중심인 P700은 CP1a와 CP1에 이루어지고 오직 엽록소 a만이 존재하며, CPa는 PS II의 활성을 나타내고 있다. LHCP1, LHCP2 및 LHCP3는 집광색소 단백질로 이들 광화학계와 연관되어 있다(Eskins et al., 1983 a, b).

또한 엽록소-단백질 복합체의 단백질 분자량 측정은 낮은 분자량의 엽록소-단백질 복합체의 해상력을 좋게 하기 위해 (Rusckowski and Zilinskas, 1980), 12.5% SDS-PAGE를 이용(Schuster and Harel, 1985; Griffith et al., 1982; Wittenbach, 1983)하여 몇 가지 표준 단백질에 대한 상대적 이동거리(Tang and Satoh, 1984; Neville, 1971; Kan and Thornber, 1976)를 측정하여 환산하였는데 고등식물과 조류, 광합성 세균등에서 얻은 분자량의 값은 종에 따라 다양하였다(Remy and Leclerc, 1977). 또한 이때 끓는 물에서 2분간 thylakoid막 추출액을 가열한 후 전기영동 하여 얻

은 양상과 가열하지 않은 경우에서 차이(Dunkley and Anderson, 1979)를 보였는데 가열한 경우에 M.W.가 약 100kd의 CP1과 LHCP를 이루는 단백질의 분리가 일어난다고 하였는데 이러한 결과는 *Chlamydomonas reinhardtii* y-1을 재료로 하여 엽록소 및 단백질 분석실험을 한 경우에도 같은 결과(Bar-Nun et al., 1977)를 보였다.

식물체의 엽록체가 발달함에 따라 엽록소-단백질 복합체인 변화를 조사한 보고는 Nishio 등(1985)이 사탕무우를 철분이 결핍된 조건에서 키우다가 다시 철분을 줄 때 시간에 따른 엽록소-단백질 복합체를 조사하였는데 LHCP와 thylakoid 단백질이 철분이 주어진 후 24시간부터 48시간에 크게 증가하며 이것은 또한 전체 엽록소 함량의 증가와 관련된다고 하였다.

그리고 전기영동을 한 후 663nm에서 흡광도를 조사한 결과는 시간이 지날수록 엽록소-단백질 복합체가 다양하여진다는 내용을 보고했다.

Biswal (1985)은 IAA와 cytokinin등이 색소체 발달에 결정적인 역할을 한다고 보고하였으며 형성된 엽록소의 약 90%는 thylakoid막에 엽록소-단백질 복합체 상태로 포함되어 있으므로(Anderson et al., 1978), 본 실험에서는 엽록소-단백질 복합체인 전기영동 양상에 대한 IAA와 zeatin의 영향을 조사하여 엽록소 형성과 thylakoid막의 분화의 관계를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

재료의 처리 및 생육조건 본 실험에서 사용한 오이(*Cucumis sativus* L. cv. Cheongchangmadi)의 종자는 제일종묘에서 구입하였고 25±2°C 암조건하의 질석토에서 6일간 발아시킨 후(Castelfranco et al., 1974; Naito et al., 1980) 하배축을 없앤 자엽만을 25±2°C 암실에서 12시간 동안 10⁻⁶M IAA, 10⁻⁷M IAA, 10⁻⁶M zeatin, 10⁻⁷M zeatin등이 포함된 용액에 침지시켰다.

이때 시험구에 일정농도의 산소를 유지시키기 위하여(Beale and Castelfranco, 1974) 기포발생기로 계속 공기를 공급시켰다. 12시간이 지난 후 25

$\pm 2^{\circ}\text{C}$, 2,200lux(Argyroudi-Akoyunoglou and Akyunoglou, 1970)의 빛을 12시간 동안 조사하면서 경시적으로 시료를 취하여 실험재료로 삼았다.

Thylakoid막의 추출 엽록소-단백질 복합체의 변화를 측정하기 위하여 광 조사 후 3시간마다 시료르 얻어서 Dunkley와 Anderson(1979) 방법을 일부 변경하여 thylakoid막을 추출하였다. 자엽에 광을 조사하면서 시간별로 각 시험구에서 80개의 자엽을 취하여 Potter-Elvehjum형 마쇄기에 넣고 10mM KCl과 0.3M sucrose가 들어있는 50mM potassium phosphate 완충액(pH7.2) 20ml를 가하여 마쇄한 다음 2층의 gauze로 여과한 후 이것을 2,000g에서 10분간 원심분리하였다. 이 침전물을 10mM KCl이 들어 있는 50mM potassium phosphate 완충액(pH 7.2)에 다시 섞어서 4,000g로 원심분리하고 침전물을 20ml 증류수에 녹여 4,000g에서 원심분리하여 썼었다. 이 침전물을 다시 20ml의 Na-EDTA(pH 8.0) 용액에 녹여 10,000g에서 10분간 원심분리하였다. 이 침전물을 5ml 50mM tricine(pH 8.0)과 10% SDS 3ml를 가한 후 (Eskins et al., 1983) -70°C deep freezer에 보관하였으며 FPLC의 시료로 사용 시에는 sephadex G-25 Column (Apel et al., 1977)을 통과시켜 사용하였다.

SDS-polyacrylamide gel electrophoresis Denaturing 전기영동에 의한 LHCP의 관찰은 Laemmli(1970)의 방법을 일부 변경한 Rusckowski와 Zilinskas(1980)의 방법을 사용하였으며 12.5%(w/v) acrylamide, 0.332%(w/v) N, N-methylene-bis-acrylamide, 1% (w/v) SDS, 0.05% (v/v) TEMED, 0.05% (w/v) ammonium persulfate등이 1.5M Tris-HCl (pH 8.8) 완충액에 포함된 용액으로 running gel을 사용하였다. Stacking gel은 6.0%(w/v) acrylamide, 0.16%(w/v) N, N-methylene-bis-acrylamide, 0.08%(w/v) SDS, 0.3% (v/v) TEMED, 0.01%(w/v) ammonium persulfate가 포함된 0.5M Tris-HCl (pH 6.8) 완충액을 사용하였다. 그리고 시료의 양은 100 μl , 시료완충액은 30 μl 사용하였고, 모든 전기영동은 vertical slab gel 장치(Korea Manhattan Co.)로 $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ 조건하에서 실시하였다. 시료를 전개하기 전에 100V에서 30분간 prerunning하

여 완충액을 pre-equilibrate시킨(Wessels and Borchert, 1978) 후 stacking gel은 100V서 30분, running gel은 150V로 전압을 일정하게 유지시키면서 6-7시간 동안 running하였다. 전기영동이 끝난 gel은 0.25% Coomassie brilliant blue R 용액으로 2시간 동안 염색한 다음 7.5% 빙초산과 5% ethanol로 탈색하였으며 7.5% 빙초산 용액에 보관하였다.

엽록소-단백질 복합체인 분자량 측정. 광 조사 시간에 따른 대조구 및 호르몬 처리구의 엽록소-단백질 복합체인 분자량을 측정하기 위하여 몇 가지 표준 단백질을 함께 12.5% denaturing 전기영동(Apel et al., 1975)을 실시한 후 bromophenol blue에 대한 상대적인 표준 단백질의 이동거리를 비교함으로써 측정하였다.

FPLC를 이용한 엽록소 단백질 복합체의 변화조사 엽록체 막의 추출에서 얻은 엽록소-단백질 복합체를 Sephadex G-25 column (1.5 \times 5.5cm)을 통과시켜 desalting한 후 millipore filter membrane (pore size, 0.02 μm)을 통과시켜 FPLC (Fägerstan et al., 1984)의 이온교환 column (Mono Q, HR 5/5, 5 \times 50mm)에 시료 200 μl 를 부가하였다. 이때 50mM tricine에 대한 0.35M NaCl의 구배는 대부분 0에서 10분까지는 50%, 10분부터 15분까지는 100%의 구배로 분당 1ml의 속도로 18분간 용출시켰으며 그 이후 21분까지는 다시 50mM tricine으로 용출하여 column을 세척하였다. 또한 각 분획의 단백질의 양은 280nm에서 측정하였다. 그리고 1번과 2번 peak가 CP1a와 CP1임을 확인하기 위하여 12시간 광 조사한 10^{-6}M zeatin 처리구의 FPLC 결과 얻은 1번과 2번 peak에 해당하는 용출액과 7일간 자라게 한 오이 자엽의 thylakoid막의 추출물은 PAGE하여 나타난 CP1a와 CP1이 있는 gel을 잘라 Potter-Elvehjum형 마쇄기로 50mM tricine 5ml를 더하여 4°C 이하에서 마쇄한 후 엽록소-단백질 복합체를 얻어 7.5% SDS-PAGE 이동거리를 비교하였다.

결 과

SDS-polyacrylamide gel electrophoresis에 의

한 양상 비교 Fig.1은 오이자엽을 12시간 동안 암소에서 $10^{-6}M$ 의 IAA와 zeatin을 각각 처리하여 침지한 후에 2,200 lux의 광을 조사하여 처리구 별로 엽록소-단백질 복합체의 변화를 조사한 것이다. 전체적인 경향을 보면 광 조사 3시간 후의 대조구(3C)에서 66kd, 59kd, 35kd, 21kd의 단백질이 존재하였으며 이러한 양상은 광 조사 후 12시간까지 같았다. 그러나 광조사 6시간후의 zeatin처리구(6Z)와 9시간 후의 IAA처리구(9I)부터는 30kd의 단백질 band가 나타났으며, 대조구의 경우에는 12시간 후(12C)에 나타났다. 그리고 7일된 오이자엽에서 얻은 thylakoid막 추출액의 전기영동 양상(7C)에서 LHCP를 이루는 30kd의 단백질의 band가 다른 band보다 더 뚜렷하여 졌는데, 이러한 결과는 앞서 나타난 시간에 따른 변화와 연관지어 볼

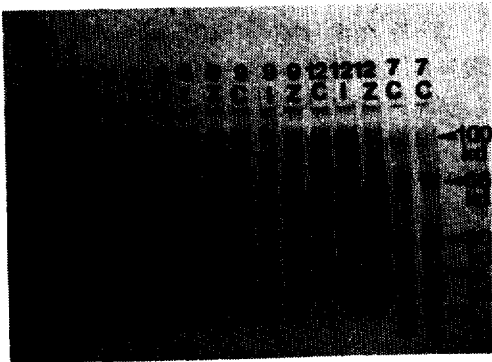


Fig.1. Effect of IAA and zeatin on the formation of C-P complex in greening cucumber cotyledons during 12hr subsequent continuous illumination with 2,200 lux of white light. Cotyledons were pretreated with $10^{-6}M$ IAA and $10^{-6}M$ zeatin for 12hr in darkness or incubated with water throughout the dark preincubation period. Lanes: 3C; 3hr control. 3I; 3hr $10^{-6}M$ IAA. 3Z; 3hr $10^{-6}M$ zeatin. 6C; 6hr control. 6I; $10^{-6}M$ IAA. 6Z; 6hr $10^{-6}M$ zeatin. 9C; 9hr control. 9I; 9hr $10^{-6}M$ IAA. 9Z; 9hr $10^{-6}M$ zeatin. 12C; 12hr control. 12I; 12hr $10^{-6}M$ IAA. 12Z; 12hr $10^{-6}M$ zeatin. 7C; C-P complex extracted from 7 days old cucumber cotyledons.

때 오이자엽이 성숙함에 따라 30kd의 단백질이 많이 형성되고 있음을 시사하였다. 그리고 7일된 자엽의 thylakoid막의 엽록소-단백질 복합체(7C)를 전기영동한 결과, 약 100kd 단백질의 band가 있었으나 12시간까지 광 조사한 대조구, IAA 및 zeatin 처리구에는 없었다.

SDS-polyacrylamide gel electrophoresis에 의한 denaturing 엽록소-단백질 복합체의 분자량 측정 몇 가지 분자량이 알려진 표준 단백질을 이용하여 denaturing SDS-PAGE를 실시하여 엽록소-단백질 복합체인 분자량을 측정한 결과는 Fig.2, Fig.3과 같으며 이때 광 조사 후 3시간부터

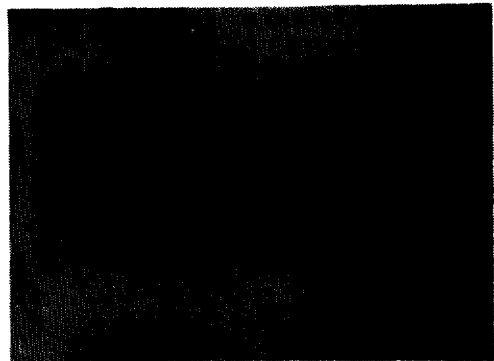


Fig.2. Mobility of C-P complex during SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. Denaturing polyacrylamide gel electrophoresis (12.5% acrylamide, 1% SDS) with several references of known molecular weights was carried out to determine the molecular size of each C-P complex as described in methods. Lanes: 3C; 3hr control. 3I; 3hr $10^{-6}M$ IAA. 3Z; 3hr $10^{-6}M$ zeatin. 6C; 6hr control. 6I; $10^{-6}M$ IAA. 6Z; 6hr $10^{-6}M$ zeatin. 9C; 9hr control. 9I; 9hr $10^{-6}M$ IAA. 9Z; 9hr $10^{-6}M$ zeatin. 12C; 12hr control. 12I; 12hr $10^{-6}M$ IAA. 12Z; 12hr $10^{-6}M$ zeatin. 7C; C-P complex extracted from 7 days old cucumber cotyledons. Symbols: β -galactosidase(β -GAL., 116kd); bovine serum albumin(BSA., 68kd); ovalbumin(OVAL., 45kd); chymotrypsinogen A(CHYMO., 25.7kd); myoglobin(MYO; 17.8kd); cytochrome C(CYT. C, 12.4kd).

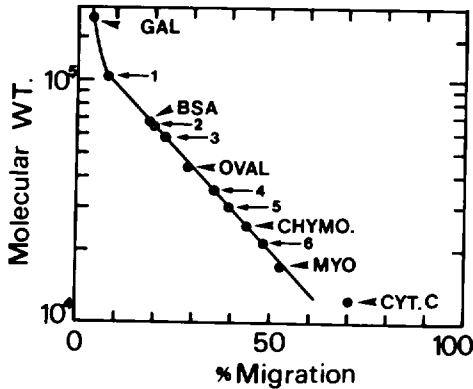


Fig. 3. Plot of migration rates of C-P complex protein against molecular weights for proteins. Molecular weights of subunits were determined from plots of relative migration rates(%) of reference proteins to bromophenol blue dye marker on denaturing gel vs. Log molecular weight for each reference as described in methods. The migration rate for bromophenol blue was set as 100%.

12시간 동안에 존재하는 각 엽록소-단백질 복합체의 분자량은 대략 1; 66kd, 2; 59kd, 3; 35kd, 4; 30kd, 5; 21kd였다. 7일간 자란 오이 앞에서 추출한 엽록소-단백질 복합체의 denaturing 전기영동(7C) 결과를 보면 약 100kd의 CP1과 약 66kd, 약 30kd의 엽록소-단백질 복합체(Hiller and Goodchild, 1981)가 뚜렷하게 나타났다.

FPLC를 이용한 엽록소-단백질 복합체의 변화 조사 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis에 의한 denaturing 전기영동으로 얻은 결과와 비교하기 위하여 CP1a와 CP1이 thylakoid막을 이루는 단백질에서 차지하는 비율이 대조구와 IAA 및 zeatin 처리시에 어떻게 변화하는 가를 알아보기 위해 조사한 결과는 Fig. 4 및 Fig. 5와 같다. 광 조사 시간에 따라 전체 thylakoid막을 이루는 단백질에 있어서 CP1a와 CP1은 4시간 이후에 크게 증가되는 경향을 보였다. 특히 zeatin 처리구에 있어서 12시간에는 CP1a와 CP1의 peak가 다시 세분화됨을 나타내었는데 이 결과는 SDS-PAGE를 하였을 때 나타나는 2개의 band와 일치되었다. 그리고 thylakoid막의 전체 단백질에 대한 CP1a와

CP1의 비율의 변화(Table 1)를 보면 CP1a와 CP1으로 이루어진 PSI의 단백질은 광선 조사 후 2시간에 대조구의 경우 26.91% 정도 차지하였고 IAA와 zeatin 처리구의 경우는 24.65%와 27.36%를 차지하였으며 광선 조사가 계속되는 8시간까지는 약 47%까지 증가하다가 그 이후 서서히 감소되는 경향을 나타내었는데 12시간 후에 대조구에서는 41.83%였고 IAA와 zeatin 처리구에서는 39.47%, 35.20%로 대조구보다 낮았으며 특히 zeatin 처리구가 IAA보다 더 낮아서 LHCP의 형성이 잘 이루어지고 있음을 보였다.

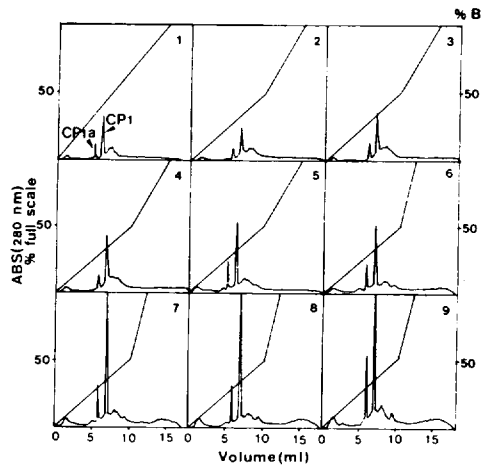


Fig. 4. Anion exchange chromatography of thylakoid membrane extracts on Mono Q. Conditions: Sample, 200 μ l of thylakoid membrane extracts in 50mM tricine, column, Mono Q HR 5/5; buffer A, 50mM tricine, pH 8.0; buffer B, 50mM tricine, pH 8.0, 0.35M NaCl; 1, gradient, 0-100% B in 15 min 2,3,4,5, gradient, 0-50% B in 10 min, 50-100% in 5 min. 6,7,8,9, gradient 0-50% in 10 min, 50-100% in 2 min; flow rate, 1ml/min; detection, 280nm. 1; 2hr control 2; 2hr 10^{-6} M IAA. 3; 2hr 10^{-6} M zeatin. 4; 4hr control 5; 4hr 10^{-6} M IAA. 6; 4hr 10^{-6} M zeatin. 7; 6hr control 8; 6hr 10^{-6} M IAA. 9; 6hr 10^{-6} M zeatin.

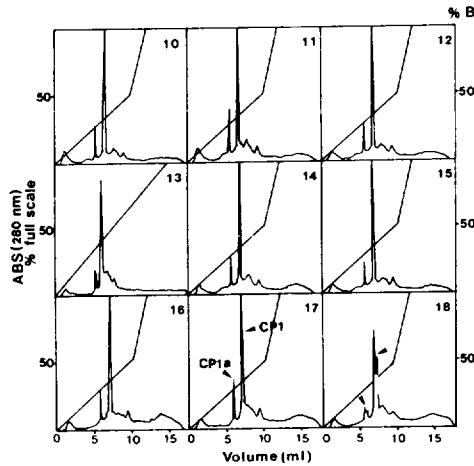


Fig.5. Anion exchange chromatography of thylakoid membrane extracts on Mono Q. Conditions: Sample, 200 μ l of thylakoid membrane extracts in 50mM tricine, column, Mono Q HR 5/5; buffer A, 50mM tricine, pH 8.0; buffer B, 50mM tricine, pH 8.0, 0.35M NaCl; gradient, 0-50% B in 10 min 50-100% B in 2 min; flow rate, 1ml/min; detection, 280nm. 13, gradient, 0-100% B in 15 min. 10; 8hr control 11; 8hr 10^{-6} M IAA. 12; 8hr 10^{-6} M zeatin. 13; 10hr control 14; 10hr 10^{-6} M IAA. 15; 10hr 10^{-6} M zeatin. 16; 12hr control 17; 12hr 10^{-6} M IAA. 18; 12hr 10^{-6} M zeatin.

또한 CP1a와 CP1의 전기영동 및 FPLC에서 얻은 엽록소-단백질 복합체를 7.5% SDS-PAGE 전기영동을 실시한 결과(Fig.6)는 bromophenol blue에 대하여 동일한 이동거리를 보여, 같은 단백질임을 알 수 있었으며 CP1a는 2개의 band를 나타냈다.

고 찰

식물체의 엽록체가 발달함에 따른 엽록소-단백질 복합체 변화에 관한 연구는 Nishio등(1985 a,b)이 광 조사 시간이 길어질수록 다양하게 변화된다

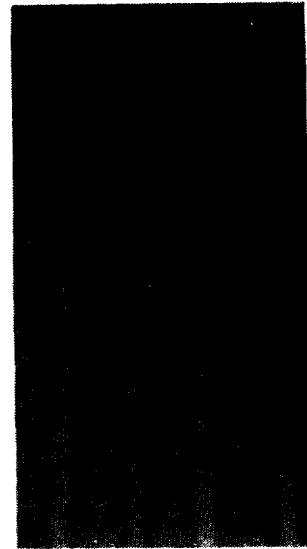


Fig.6. Polyacrylamide slab gel reelectrophoresis of CP1a and CP1 extracted from electrophoresis of 7 days old cucumber cotyledons (lane; E) and separated from FPLC™ elution of 12hr illuminated cotyledons(lane; F) Gels were composed of either 7.5% acrylamide containing 1% SDS and were stained for protein with Coomassie brilliant blue.

는 발표 외에 Darr와 Arntzen(1986)은 보리를 재료로 하여 엽록체 발달에 따라 PSII의 반응중심인 CPa와 이와 연관된 LHCP1, LHCP2, LHCP3가 변화한다고 보고하였다.

엽록체의 엽록소-단백질 복합체를 이루는 단백질은 세포질에서 만들어져 약 4kd의 크기로 엽록체로 들어온다고 알려져있고 (Schmidt et al., 1981), 엽록소-단백질 복합체를 이루는 32kd, 33.5kd의 단백질이 엽록체 형성시에 조류와 피자 식물들에서 만들어진다는 보고가 있다(Hoffman-Falk et al., 1982).

Lee 등(1983)은 유채자염을 재료로 한 실험에서 greening 초기에는 LHCP가 주요 엽록소-단백질 복합체로 존재하며 CP1은 greening 되어감에 따라 증가된다고 보고하였다. 그리고 Chua등(1975)은 *Chlamydomonas reinhardtii*와 시금치, 배추를 재료로 한 엽록소-단백질 복합체 추출물을 100°C에

Table 1. Effect of IAA and zeatin on % of CP1a+CP1/C-P complex in greening cucumber cotyledons during 12hr subsequent continuous illumination with 2,200 lux of white light. Cotyledons were pretreated with 10^{-6} M IAA and 10^{-6} M zeatin for 12hr in darkness or incubated with water throughout the dark preincubation period

Time in light (hr)	Control	10^{-6} M IAA	10^{-6} M zeatin
	elution volume/elution volume		
2	26.9 ...	24.7 ± 1.64	27.4 ± 1.09
4	33.4 ± 1.34	28.8 ± 4.03	35.0 ± 2.89
6	44.1 ± 2.93	43.0 ± 0.33	42.4 ± 2.18
8	45.7 ± 2.60	46.7 ± 1.66	46.4 ± 2.18
10	44.0 ± 5.39	47.6 ± 2.21	44.1 ± 1.70
12	41.8 ± 9.41	39.5 ± 0.83	35.2 ± 3.03

1. Each results represents the average frequency(\pm SE) of the two replicates of each treatments.

서 1분간 가열한 후 SDS-PAGE를 한 결과 CP I와 CP II의 band가 나타나지 않는 결과를 통해 열에 의해 CP I을 이루는 단백질이 분리되는 현상이 나타났다고 하였다.

한편 엽록체 내의 엽록소들은 90%가 엽록체 막에 결합된 상태로 존재하므로(Anderson et al., 1978), 이들 엽록소 합성에 대한 촉진효과는 막 단백질의 형성과 연관되어 있을 것이라 사료되어 엽록체 막의 엽록소-단백질 복합체 형성을 조사하였다. 본 실험에서 denaturing SDS-PAGE의 결과(Fig.1)를 보면 7일간 자라게 한 오이자엽의 엽록소-단백질 복합체중 CP1a를 이루는 약 100kd의 단백질 band가 나타나는데 반하여 12시간까지 광 조사하면 66kd의 단백질 band가 나타났다. 이외에 59kd, 35kd, 30kd와 21kd의 단백질 band도 나타났다. 특히 12시간 광을 처리한 경우에 대조구보다 IAA와 zeatin 처리구에서 30kd의 단백질이 먼저 나타났다. 이것은 IAA가 m-RNA의 합성과 단백질의 합성을 촉진하며 zeatin은 t-RNA에 합쳐되어 단백질 합성에 작용한다(Moore, 1979)고 알려져 있는데, 이러한 기전에 의하여 엽록소-단백질 복합체를 이루는 peptide 합성이 촉진된 것이라 사료된다. 7일된 오이자엽과 12시간 광을 처리한 오이자엽을 비교할 때 12시간 처리구에서

100kd의 CP1a의 복합체를 이루는 band가 없는 것은 성숙하지 않은 잎에서 불안정한 상태(Lee et al., 1983)에 있기때문에 열에 의한 단백질의 분리가 일어나서 66kd의 band만 보이는 것이고(Chua et al., 1975; Dunkley and Anderson, 1979; Barnun et al., 1977), 7일된 오이자엽은 일부 안정된 상태로 남아있어 100kd의 band가 나타난 것으로 사료된다.

대조구, IAA 및 zeatin 처리구의 또 다른 특이한 변화는 30kd의 분자량을 가지는 peptide 변화인데 zeatin 처리구에서는 6시간 광 조사 후, IAA 처리구는 9시간 후, 대조구는 광 조사 후 12시간에 나타났으며 이 band는 7일된 오이자엽에서 매우 뚜렷하여진다. 이러한 결과는 IAA와 zeatin이 엽록소-단백질 복합체를 이루는 단백질의 합성을 더 촉진시키는 것이라 사료되었으므로 서문에서 언급된 Biswal(1985)의 보고와 같았다. 그리고 FPLC를 이용하여 대조구와 IAA 및 zeatin 처리구에서 시간에 따른 엽록소-단백질 복합체 변화를 조사한 결과 SDS-PAGE에서 나타난 바와 같이 광 조사 시간에 따라 다양하여졌다. 그리고 전체 엽록소-단백질 복합체중 CP1a와 CP1의 차지 비율은 광선 조사 10시간까지 증가하는 경향을 보였는데 이것은 PS I이 광 조사 기간에 형성증가가

이루어짐을 말하며 denaturing 전기영동 결과에서와 같이 30kd등의 LHCP를 구성하는 단백질의 합성이 광 조사 후 9시간부터 증가하기 때문에 CP1a와 CP1의 비율이 thylakoid막에서 상대적인 감소가 일어난 결과로 사료된다(Lee et al., 1983).

이러한 결과들을 통하여 볼 때 IAA와 zeatin은 엽록소-단백질 복합체를 이루는 단백질의 합성에 영향을 준다고 사료되었으며 특히 분지량이 30kd인 LHCP를 이루는 단백질의 합성에 영향이 뚜렷하게 나타났다.

인 용 문 헌

- Anderson, J. M., J. C. Waldron and S. W. Thorne. 1978. Chlorophyll-protein complexes of spinach and barley thylakoids. FEBS Lett. 92(2): 227-233.
- Apel, K., 1977. The light-harvesting chlorophyll a/b protein complex of the green alga *Acetabularia mediterranea* isolation and characterization of two subunits. Biochim. Biophys. Acta 462: 390-402.
- Apel, K., L. Bogorad and C. L. F. Woodcock. 1975. Chloroplast membranes of the green alga *Acetabularia mediterranea*. Biochim Biophys. Acta 387: 568-579.
- Argyroudi-Akoyunoglou, J. H. and G. Akoyunoglou. 1970. Photoinduced changes in the chlorophyll a to chlorophyll b ratio in young bean plants. Plant Physiol. 46: 247-249.
- Bar-Nun, S., R. Schantz, and I. Ohad. 1977. Appearance and composition of chlorophyll-protein complexes I and II during chloroplast membrane biogenesis in *Chlamydomonas reinhardtii* y-1. Biochim. Biophys. Acta 459: 451-467.
- Beale, S. I. and P. A. Castelfranco. 1974. The biosynthesis of δ -aminolevulinic acid in higher plants. Plant Physiol. 53: 291-296.
- Biwwal, B., 1985. Greening of leaves and its modulation by various factors. Indian Rev. Life Sci. Recited In: Plant Growth Regulators.
- Brandt, P., E. Zufall and W. Wiessner. 1983. Relation between the light-harvesting chlorophyll a-protein complex LHCPa and photosystem I in the alga *Chlamydomonas reinhardtii* y-1. Plant Physiol. 71: 128-131.
- Brown, J. S., 1977. Fluorescence spectroscopy of a P700-chlorophyll-protein complex. Photochem Photobiol. 26: 519-525.
- Castelfranco, P. A., P. M. Rich and S. I. Beale. 1974. The abolition of the lag phase in greening cucumber cotyledons by exogenous δ -aminolevulinic acid. Plant Physiol. 53: 615-618.
- Chua, N.-H., K. Matlin and P. Bennoun. 1975. A chlorophyll-protein complex lacking in photosystem I mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* y-1. J. Cell Biol. 67: 361-377.
- Darr, S. C. and C. J. Arntzen. 1986. Reconstitution of the light harvesting chlorophyll a/b pigment-protein complex into developing chloroplast membranes using a dialyzable detergent. Plant Physiol. 80: 931-937.
- Dunkley, P. R. and J. M. Anderson. 1979. The light-harvesting chlorophyll a/b-protein complex from barley thylakoid membranes: Polypeptide composition and characterization of an oligomer. Biochim. Biophys. Acta 545: 174-187.
- Eskins, K., D. Delmastro and L. Harris. 1983. A Comparison of pigment-protein complexes among normal, chlorophyll-deficient and

- senescent soybean genotypes. *Plant Physiol.* 73: 51-55.
- Eskins, K., M. E. Duysen and L. Olson. 1983. Pigment analysis of chloroplast pigment-protein complexes in wheat. *Plant Physiol.* 71: 777-779.
- Fägerstan, L., I. Kallman and U-B. Frederiksson. 1984. Profiling of meat extracts using Mono Q, Mono S and pro RPC In: Analysis of food proteins recited in FPLC ion exchange and chromatofocusing principles & methods. 1985. Pharmacia Fine Chemicals pp: 6-36.
- Genge, S., D. Pilger and R. G. Hiller. 1974. The relationship between chlorophyll b and pigment-protein complex II. *Biochim. Biophys. Acta* 347: 22-30.
- Griffith, M., G. N. Brown and N. P. A. Huner. 1982. Structural changes in thylakoid proteins during cold acclimation and freezing of winter rye (*Secale cereal* L. cv. Puma). *Plant Physiol.* 70: 418-423.
- Henriques, F. and R. Park. 1977. Polypeptide composition of chlorophyll-protein complexes from romaine lettuce. *Plant Physiol.* 60: 64-68.
- Hiller, R. G. and D. J. Goodchild. 1981. thylakoid membrane and pigment organization In: The biochemistry of plants. Stumpf, P. K., E. E. Conn. Academic Press (8) pp: 1-49.
- Krishna, M. and A. Gnanam. 1979. A basic chlorophyll-protein complex. *FEBS Lett.* 97 (2): 322-324.
- Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T. 4. *Nature* 227: 680-685.
- Lee, C. B., Y. N. Hong and Y. M. Kwon. 1983. Formation of chlorophyll-protein complexes in greening rape cotyledons. *Kor. J. Bot.* 26 (20): 91-99.
- Markwell, J. P., J. P. Thornber and R. T. Boggs. 1979. Higher plant chloroplasts: Evidence that all the chlorophyll exists as chlorophyll-protein complexes. *P.N.A.S.* 76(3): 1233-1235.
- Markwell, J. P., A. N. Webber and B. Lake. 1985. Mutants of sweetclover (*Melilotus alba*) lacking chlorophyll b. *Plant Physiol.* 77: 948-951.
- Moore, T. C. 1979. Auxins In: Biochemistry and physiology of plant hormones. Springer-verlag. pp: 62-84, pp: 162-168.
- Naito, K., T. Takahashi, Y. Endo and S. Shimizu. 1980. Benzyladenine-induced chlorophyll formation in etiolated cucumber cotyledons: Differential responses of δ -aminolevulinic acid formation to inhibitors of RNA and protein synthesis in darkness and then after illumination. *Z. Pflanzenphysiol.* 97: 309-316.
- Neville, D. M., Jr. 1971. Molecular weight determination of protein-dodecyl sulfate complexes by gel electrophoresis in a discontinuous buffer system. *J. Biol. Chem.* 246(20): 6328-6334.
- Nishio, J. N., J. Abadia and N. Terry. 1985. Chlorophyll-proteins and electron transport during iron nutrition-mediated chloroplast development. *Plant Physiol.* 78: 296-299.
- Nishio, J. N., S. E. Taylor and N. Terry. 1985. Changes in thylakoid galactolipids and proteins during iron nutrition mediated chloroplast development. *Plant Physiol.* 77: 705-711.
- Remy, R., J. Hoarau and J. C. Leclerc. 1977. Electrophoretic and spectrophotometric studies of chlorophyll-protein complexes from tobacco chloroplasts. Isolation of a light harvesting pigment protein complex with a molecular weight of 70,000. *Photochem. Photobiol.* 26: 151-158.
- Ruscowski, M. and B. A. Zilinskas. 1980. Chlorophyll-protein complexes of the cyanophyte, *Nostoc* sp. *Plant Physiol.* 65: 392-396.

- Schmidt, G. W., S. G. Bartlett, A. R. Cashmore and N. H. Chua. 1981. Biosynthetic pathways of two polypeptide subunits of the light-harvestin chlorophyll a/b protein complex. *J. Cell Biol.* 91: 468-478.
- Schuster, A. and E. Harel. 1985. A low molecular weight polypeptide which accumulates upon inhibition of porphyrin biosynthesis in maize. *Plant Physiol.* 77: 648-652.
- Scott, B. and R. P. F. Gregory. 1975. Properties of protein-chlorophyll complexes from pea (*Pisum sativum* L.) leaves. *Biochem. J.* 149: 341-347.
- Stephens, R. E., 1975. High-resolution preparative SDS-polyacrylamide gel electrophoresis: Fluorescent visualization and electrophoretic elution-concentration of protein bands. *Anal. Biochem.* 65: 369-379.
- Tang, X. -S. and K. Satoh. 1984. Characterization of a 47-kilodalton chlorophyll-binding polypeptide (CP-47) isolated from a photosystem II core complex. *Plant & Cell Physiol.* 25(6): 935-945.
- Wessels, J. S. C. and M. T. Borchert. 1978. Polypeptide profiles of chlorophyll-protein-complexes and thylakoid membranes of spinach chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acts* 503: 78-93.
- Wittenbach, V. A., 1983. Purification and characterization of a soybean leaf storage glycoprotein. *Plant Physiol.* 73: 125-129.