

# 光合成細菌에 대한 研究

## I. *Rhodospirillum rubrum*의 Polyphosphate 生合成에 있어서 磷酸源에 따른 差異

吳 德 鐵<sup>1)</sup> · 李 賢 順<sup>2)</sup>

### Studies on the Photosynthetic Bacteria

#### I. The Differences on Polyphosphate Biosynthesis by the Phosphate Source in *Rhodospirillum rubrum*

Duck-chul Oh<sup>1)</sup> · Hyun-soon Lee<sup>2)</sup>

#### Summary

1. Photosynthetic Bacterium *R. rubrum* was cultured in Orthophosphate or Pyrophosphate-containing medium under light or dark condition. Cell Yield, pH Change, Polyphosphate content were investigated.
2. pH of Orthophosphate medium was low than Pyrophosphate medium.
3. Cell Yield was low with Orthophosphate medium under light, but was low with Pyrophosphate medium in case of dark culture.
4. Polyphosphate content was always very high with Pyrophosphate medium.
5. It looks likely that under dark culture with Orthophosphate medium *R. rubrum* synthesizes Pyrophosphate with substantial amounts.
6. It seems that Pyrophosphate concern directly in biosynthesis of long chain Polyphosphate.

#### 緒 言

細胞內的 저장物質인 無發Polyphosphate(Volutin, Babes-Ernst granule, Metachromatic granule)는 처음 Libermann(1888)에 의해서 Yeas에서 觀察된 후 수많은 種類的의 細菌, 菌類, Cyanobacteria, 藻類, 이끼(Kulaev, 1979)뿐만 아니라 原生動物(Ebel *et al.*, 1958, Rosenberg, 1961), 昆蟲(Heller *et al.*, 1950, Pierpoint, 1957) 개구리 胚(Shiokawa *et al.*, 1965)와 포유동물의 組織에서도 發見되고 있다. (Gabel, 1971, Gabel & Thomas, 1971).

이 Polyphosphate는 부분적으로 문제점이 있긴 하지만 (Harold, 1962, Harold & Harold, 1965, Harold & Sylvan, 1963, Nesmeyanova, 1974) 대체적으로 Pnosphagen으로서의 기능(Hoffman-Ostenhof, 1962) 인간의 저장물로서(Harold, 1966), 活性磷酸의 저장물로서(Dierkauf *et al.*, 1968) 또 대사과정의 調節物質로서(Ehrenberg, 1961)의 기능들이 提意되고 있다.

한편 이 Polyphosphate의 合成과 分解에 관한 연구들도 여러 種類的의 生物에서 活潑히 연구되어 많은 種類的의 판여 효소들과 그 경로등이 발표되고 있다.

1) 濟州大學 師範大學 生物教育科

2) 成均館大學 理科學 生物學科

(Harold, 1966. Hoffman-Ostenhof, 1962. Harold & Harold, 1963. Nesmeyanova et al., 1974).

그러나 光合成生物을 材料로 한 연구는 대부분이 藻類(Smillie, 1960. Hermann & Schmidt, 1965. Baker & Schmidt, 1964. Lee, 1964. Lee & Lee, 1969. Lee & Lim, 1982)에서 이루어졌고 光合成細菌을 材料로 한 경우는 아주 드물며 (Baltscheffsky, 1967. Carr & Sandhu, 1966. Cole & Hughes, 1965. Kulaev et al., 1974. Shadi et al., 1976) 이 중에서도 光合成과 Poly P 合成과의 관계를 직접 分析하려고 한 것은 Cole & Hughes(1965). Kulaev et al. (1974). Shadi et al.(1976)등의 것뿐이며, 이의 結果도 아직 明確하지 않다. 이에 저자는 광합성세균 *Rhodospirillum rubrum*으로 光合成, 呼吸등과 Poly P 合成과의 관계를 규명하기 위해서 Orthophosphate를 포함한 배지와 Pyrophosphate를 포함한 배지에서 各各 明暗으로 배양하여 P<sub>i</sub>源에 따른 Poly P 生合成의 差異를 찾아 보아 약간의 結果를 얻었기에 보고하는 바이다.

### 材料 및 方法

菌株, 培地, 培養方法. 使用된 菌株는 처음 한국의 논에서 分離된 Wild type *Rhodospirillum*이다(Lee & Lee, 1982) 배지는 Bose et al.(1961)의 것을 그냥 사용하거나(Orthophosphate (Ortho P)를 磷酸源으로 使用할 때), 인산원으로 Pyrophosphate(Pyro P)를 주기 위해서는 약간 변형시켰다(1,000ml 배지당  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  600mg;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  900mg代身에  $\text{KHCO}_3$  1,476mg;  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  1,691.9mg을 넣었다). 明培養은 1,000ml 혹은 500ml容량의 투명한 輸液瓶에 培地를 가득채워 고무마개를 한後 四方에 白熱球를 달아 2,000Lux로 조절하고 30°C에서 행하였다. 暗培養은 500ml 輸液瓶에 培地를 300ml씩 채우고 솜마개를 한後 aluminum foil(Uffen & Wolfe, 1970)로 싸서 30°C로 shaking incubator에서 100회 왕복/분으로 행하였다. 접종은 明暗培養 共히, 單一集落을 取하여 20ml 배양병에서 Bose et al.(1962) 배지로 5일간 明배양으로 preculture 한 것(late log phase)을 使用하였고 明培養의 경우 培地 200ml당 1白金耳; 暗培養의 경우 150ml당 1白金

耳의 量으로 接種하였다. 이들 接種량은 前培養으로부터 培地成分의 이전을 防止하기(특히 Ortho P)위한것과 接種용의 細胞속에 축적되어 있는 Polyphosphate (Poly P)가 새로운 培地속에서 增殖할 때 P<sub>i</sub>源으로서 作用할 만한 量이 되지 않을 정도로 調節된 것이며 이것은 P<sub>i</sub>源이 없는 배지에 接種실험을 해본바 確認된 것이다. 또한 처음 接種時의 培地의 turbidity가 0인 상태로 되는데도 만족한 것이었다.

生育度 測定. 主로 Spectronic 20(Bausch & Lomb Co.) Spectrophotometer로 680m $\mu$ 에서 Optical Density로 測定 (Cohen-Bazire et al., 1957). 細胞의 收穫 및 測量. 배양세포는 International Refrigerated Centrifuge로 약 3,550xg로서 20분간 원심분리한 후 0.05M tris-HCl buifer(pH 7.6)Sol.로 두번 세척한 후 수취하였다(Kulaev et al., 1974). Packed volume은 원심분리관을 기울여 스며나온 水分을 충분히 제거한 후 Chemical Balance로 측정하였고 乾燥重量은 세포를 유산지에 얇게 도말한 후 110°C dry oven에서 건조한 후 dessicator에서 식힌 후 칭량하였다(Friedberg & Avigad, 1968. Hughes et al., 1963).

현미경 관찰. Olympus trinocular Research microscope로 Phase contrast 상태에서 鏡鏡 및 촬영.

Orthophosphate 및 Polyphosphate 추출 및 정량. 그림 1과 같이 Kulaev(1974)의 方法을 약간 변화시켰다. 추출과정시의 원심분리는 International Refrigerated Centrifuge로 27,000xg로 하였다. 추출한 各 分劃은 Activated Charcoal(Merck社, G. R grade)를 試料 1ml當 50mg씩 加하여 mechanical agitator로 강하게 교반하여 여과 및 원심분리로 nucleotide를 吸着한 Charcoal을 除去한 (Harold, 1963, 1966. Miyachi et al., 1964) 시료는 1M Barium acetate로 pH 4.5로 조정된 후 0°C에서 Over night 시켜서 (Mudd et al., 1958. Kulaev et al., 1974). Poly P를 침전으로 떨어뜨리고 원심분리하여 1N HCl로 100°C 10분 가수분해 하여 Ortho P로 만든후 Chen et al.(1956)의 方法으로 Spectronic 20을 사용하여 820 $\mu$ n에서 Optical Density로 測定하였다. 침전을 떨어뜨린 상정액은 그대로 Ortho P 시료로 사용하였다.

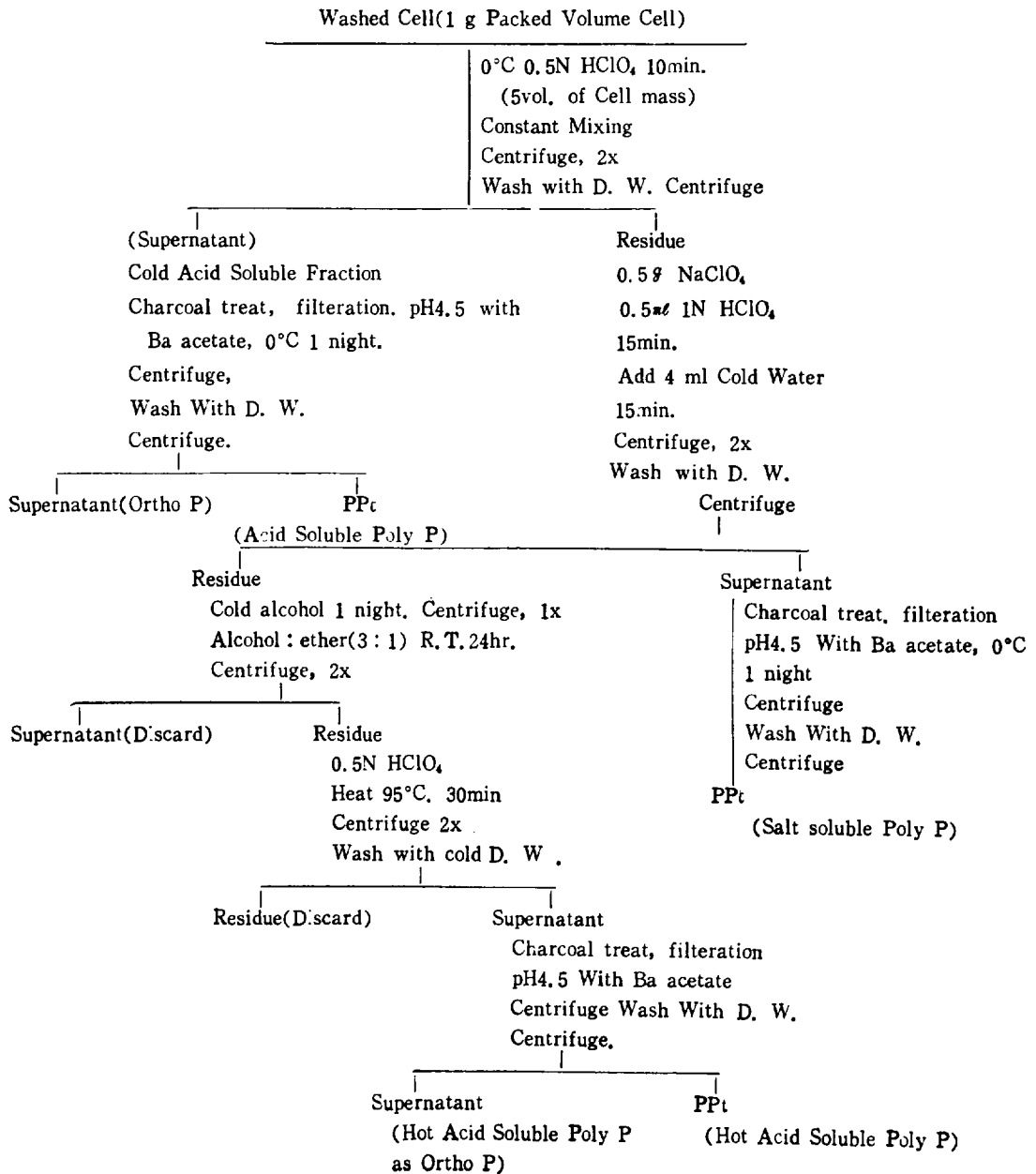


Fig 1. Orthophosphate and Polyphosphate extraction Scheme.

結果 및 考察

細胞의 增殖 및 收率·細胞의 增殖度는 Kulaev *et al.*(1974)과 거의 類似하게 明培養의 경우 5일이면 對數期에 들어갔고 7일에 靜止期에 들어가서 10일까지도 계속되었다. 그러나 暗培養의 경우 7일이면 死滅期에 들어갔으며 自己分解가 始作되었다.

pH의 변화는 표1과 같이 暗培養의 경우가 明培養의 경우보다 훨씬 높았으며 배지속에 Ortho P가 포함되었을 때 보다 Pyro P가 들어 있을때 더 높았다. 이것은 培地組成上 Pyro P가 포함되었을 경우 Buffer Reaction의 結果가 약간의 原因이 아닌가도 생각된다. 또한 특이한 것은 암배양의 경우 배양일수의 結果에 따라 pH가 계속 증가하였으나 명배양의 경우 7日 배양을 최고로 다시 떨어지는 結果를 나타내는데 이의 原因은 확실치 않다. 收率을 보면 全體的으로 暗培養이 明培養에 비해 半정도로 낮으며 Pyro P배지의 경우 明培養에서는 Ortho P배지보다 收率이 높으나 暗培養에서는 오히려 낮은 것이 또한 특징이다. 또한 명배양의 경우 7일부터 減少하고 있는데 이는 增殖曲線과도 잘 일치되는 結果이다.

다 Pyro P배지에서 세포의 길이가 훨씬 길어지는 경향이 있기 때문에 한 세포당 Poly P granule의 수도 比例적으로 많아지는 結果가 나타났다. Pyro P배지에서 세포가 훨씬 길어지는 현상은 아직 보고된 바도 없으며 그 理由는 不明이다. 그러나 나중에 언급되겠지만 Cold Acid Soluble Poly P가 Ortho P배지에서보다 월등히 많은데 이것이 어떤 原因이 되지 않나도 생각된다. 暗培養의 경우는 세포의 크기도 차이가 나지 않고 細胞당 Poly P granule의 수도 別差가 없이 2~3개 정도였다. 이들 세포를 toluidine blue로 염색한 結果 Drews(1962)의 結果와 같이 Metachromacy가 일어나지 않았다.

位相差현미경上的 Poly P granule의 형태는 *Klebsiella aerogenes* (Wilkinson and Duguid, 1960)나 *Mycobacterium thamnopheos*(Mudd *et al.*, 1958), *Aerobacter aerogenes*(Smith *et al.*, 1954)과도 아주 흡사하다. 各培養別 현미경 사진은 그림 2와 같으며 뚜렷한 Poly P granule이 보인다. 細胞內的 Ortho P 및 Poly P. 各培養의 Ortho P 및 Poly P의 含量은 표 2와 같다.

Ortho P는 明培養보다 暗培養이 월등히 많다. 이는

Table 1. The pHs and Cell Yields of Each Culture.

Culture Condition	Pi Source	Culture Days	pH	Cell Yield as Dryweight:(g)/ℓ Medium
Light, Anaerobic	Ortho P	5	7.6	0.675
		7	8.22	0.96
		10	8.14	1.03
	Pyro P	5	8.3	0.82
		7	8.72	0.95
		10	8.62	1.04
Dark, Aerobic	Ortho P	5	8.95	0.48
		7	9.0	0.47
		10	9.22	0.43
	Pyro P	5	9.10	0.44
		7	9.2	0.34
		10	9.45	0.32

顯微鏡 觀察

位相差현미경으로 檢정한 바로는 3일이면 아주 작은 Poly P granule이 生細胞에서 보이기 시작하고 5일이면 뚜렷이 관찰되며 7일이면 아주 큰 것들이 2~5개씩 보인다. 특이하게 명배양의 경우 Ortho P배지에서서

Kulaev(1974)의 경우 明培養보다 暗培養에서 약 2배 정도 나타난 것과 비교하여 훨씬 많은 차이인데 이는 供試菌株의 차이인지 明確치 않다. 그림 3에서 보는 바와 같이 배양날자별 변화는 네 시험區 共히 7日 배양의 경우 가장 낮게 나타나고 다시 상승하는 경향인데 이것 또한 Kulaev(1974)의 경우와는 다르다. 明培養

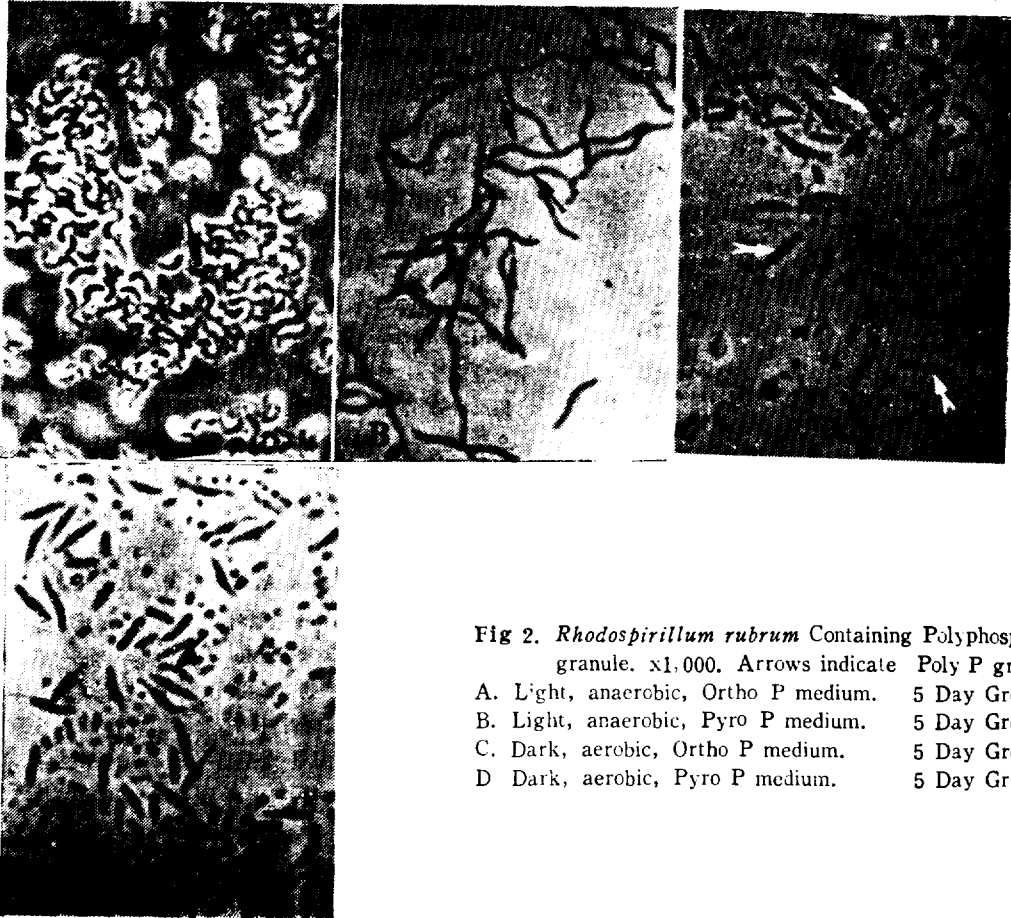


Fig 2. *Rhodospirillum rubrum* Containing Polyphosphate granule.  $\times 1,000$ . Arrows indicate Poly P granule.

- A. Light, anaerobic, Ortho P medium. 5 Day Grown Cell.
- B. Light, anaerobic, Pyro P medium. 5 Day Grown Cell.
- C. Dark, aerobic, Ortho P medium. 5 Day Grown Cell.
- D. Dark, aerobic, Pyro P medium. 5 Day Grown Cell.

Table 2. Ortho P and Poly P Contents of Each Culture. (and Percent of Each Poly P to Total Poly P)

γ Per g dry Weight

Culture Condition.	Pi Source	Culture Days	Ortho P.	Polyphosphate			Total
			Acid Soluble	Acid Soluble	Salt Soluble	Hot Acid Soluble	
Light, Anaerobic	Ortho P	5	255	104(9)	248(22)	784(69)	1,137
		7	213	366(20.4)	546(30.5)	877(49)	1,790
		10	369	266(20.6)	379(29.3)	648(50.0)	1,294
	Pyro P	5	434	8,153(90.6)	348(3.8)	490(5.4)	8,992
		7	238	3,909(80.4)	351(7.2)	597(12.3)	4,858
		10	395	7,125(89.8)	315(3.9)	493(6.2)	7,934
Dark, Aerobic	Ortho P	5	40,452	6,222(46.8)	1,254(9.4)	5,812(43.7)	13,288
		7	18,327	5,787(60.1)	1,072(11.1)	2,760(28.6)	9,620
		10	41,076	5,527(55.4)	1,315(13.2)	3,120(31.3)	9,962
	Pyro P	5	10,561	9,083(47.8)	1,110(5.8)	8,800(46.3)	18,993
		7	9,134	21,259(91.2)	891(3.8)	1,159(4.9)	23,309
		10	9,993	12,444(79.7)	1,711(10.9)	1,447(9.2)	15,602

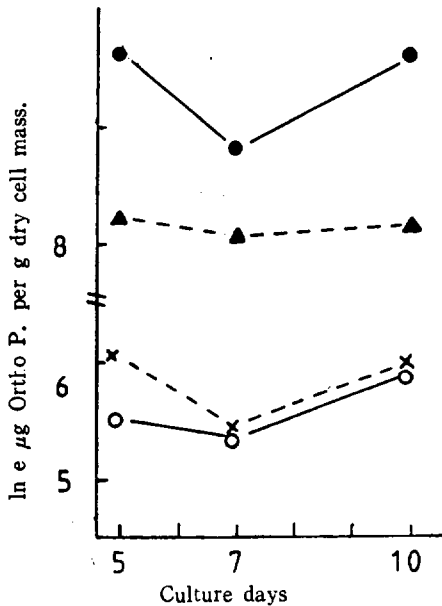


Fig 3. Orthophosphate of Cold Acid Soluble Fraction. Data from Table 2.

○—○ Light, Anaerobic, Ortho P medium.  
 ×.....× " " , Pyro P "  
 ●—● Dark, Aerobic, Ortho P "  
 ▲.....▲ " " Pyro P "

의 경우 Pyro P배지에서 많이 나타나고 暗培養의 경우 反對로 Ortho P배지에서 많이 나타난다. 이는 暗培養의 경우 세포內로 吸收된 Pyro P가 分解되어 Ortho P로 轉換되어야 할 것이기 때문인 것으로 생각된다. Acid Soluble Poly P는 Kulaev(1974)의 경우 明培養에서만 나타나고 暗培養에서는 없다고 하였으며 이는 전부 Pyro P라고 하였으며 Nishikawa *et al.* (1973)도 암소에서 Pyro P가 생성되지 않는다고 하였으나 본 실험에서는 이와 달리 明培養에서 보다 暗培養에서 월등히 많은 양이 측정되었다. (표2) Acid Soluble Fraction에 Pyrophosphate가 들어있다는 것은 Ortho P배지보다 Pyro P배지에서 훨씬 많이 나타나는 것으로 一致하고 있으나 暗培養의 경우 Ortho P배지보다 Pyro P배지에서 더 많은 양의 Acid Soluble Poly P가 나타나긴하나 Ortho P배지의 경우도 明培養의 Pyro P배지와 유사한 양의 Poly P가 나타나는 것으로 보아 暗培養에서도 Pyro P가 합성된다고 생각되며 또한 Pyro P 이외의 짧은 鎖의 Poly P도 Acid Soluble

Fraction에 들어 있다고 생각된다.

Kornberg(1957), Hoffmann-Ostenhof(1962), Guillory and Fisher(1972)등은 暗所에서 Pyro P가 실질적으로 合成된다고 보고하고 있고 또 Acid Soluble Fraction의 Ba. Salt를 toluidine blue로 metachromacy를 일으켜 본 결과 약간의 反應이 나타나는 것으로 미루어 Pyro P와 좀 더 긴 Chain의 Poly P가 混在되어 있음을 간접적으로 시사하는 것이다.

왜냐하면 순수한 Ba. Pyro P는 toluidine blue로 metachromacy가 일어나지 않기 때문이다 (Miyachi, 1961. Orews, 1962. Wilkinson & Duguid, 1960). 배양날자別 변화는 明培養의 경우 두가지 배지가 서로 相反되는 경향을 나타내어 Ortho P배지는 7일을 頂上으로 한 후, 다시 감소하나 Pyro P배지의 경우 7일이 가장 적고 다시 증가하는 경향이 있다. 暗培養의 경우 Ortho P배지에서는 계속 감소하고 Pyro P배지는 7일이 가장 많으며 다시 감소하고 있다.

Salt Soluble 및 Hot Acid Soluble Poly P는 표2와 같이 배지의 종류에 상관없이 暗培養이 훨씬 많이 나타나는데 특히 Salt Soluble Fraction의 경우 Kulaev(1974)의 결과로는 明培養에서 많이 검출되었으나 본 실험과는 反對의 결과이다.

또한 Pyro P와 어떤 상관관계를 고려하였으나 본 실험의 결과로는 뚜렷한 관계가 보이지 않는다. 그러나 Pyro P배지의 경우 세포 內로 吸收된 Pyro P가 全部 inorganic pyrophosphatase의 作用으로 (Klemme & Gest, 1971) Ortho P로 分解된 후 다시 Poly P로 移動되는지 혹은 Baltscheffsky(1967)의 示唆나 *E. coli*(Kornberg *et al.*, 1956)에서와 같이 直接 Poly P 合成에 作用하는지는 明確치 않으나 Total Poly P量의 比較로서 추정하건데 直接作用의 可能性도 크다고 생각된다.

全 Poly P는 표2와 같으며 그 배양날자別 變化는 그림 4와 같다.

가장 많은 것은 暗培養서의 Pyro P배지이고 가장 적은 것은 明培養의 Ortho P배지에서이다. 이 중에서 暗培養 Pyro P배지의 7日 배양의 경우 g dry cell mass 당 約 20mg인데, 이는 Yeast의 경우 14.5mg(Langen *et al.*, 1962)이나 dry weight의 2%도 可能하다는 것(Drews, 1962)과 잘 어울리며 全体 P의 40~50%까지 된다는(Friedberg & Avigad, 1968)것과도 잘 맞

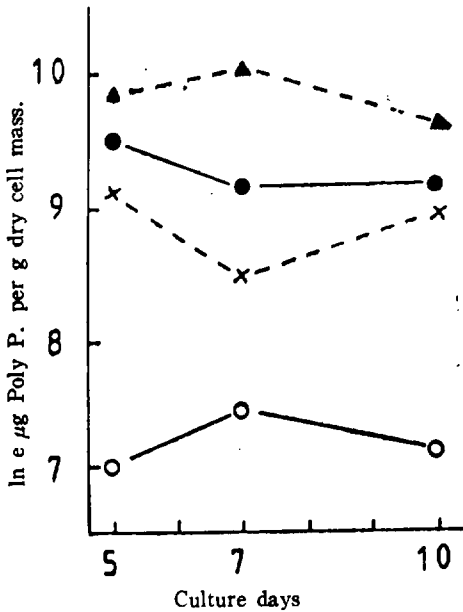


Fig 4. Changes of Total Polyphosphate of Each Culture.

○—○ Light, Anaerobic, Ortho P medium.  
 ×.....× " Pyro P "  
 ●—● Dark, Aerobic, Ortho P "  
 ▲.....▲ " Pyro P "

는다.

특이한 점은 같은 배양조건이라든가 인산의 종류에 따라 변화상태가 서로相反되게 나타나는 것이다.

暗培養의 경우 Pyro P배지는 7일이 가장 많았다가 감소하며 明培養의 경우는 Ortho P배지가 그러하다.

反對로 暗培養에서 Ortho P배지는 7일이 가장 적었다가 다시 상승하며, 明배양일 때는 Pyro P배지가 그렇다.

이 현상은 Acid Soluble Poly P도 유사하게 나타나고, 反對로 Salt Soluble, Hot Acid Soluble Poly P는 같은條件이면(明or暗)磷酸의 종류에 상관없이 같은變化를 나타내고 있는데 理由는 全 Poly P중 Acid Soluble Poly P가 絕對的으로 多量이기 때문이다.

各培養 및 Fraction別 Poly P의 全 Poly P에 대한 %는 표2와 같은데 明배양 Ortho P배지인 경우 Hot Acid Soluble Poly P가 全體의 半정도이고 Acid Soluble Poly P가 제일 적다. Pyro P배지인 경우 Acid

Soluble Poly P가 90% 정도 되는데 이는 배지 中の Pyro P영향으로 보인다.

Salt Soluble Poly P는 極히 적은 量이 나타난다. 暗배양 Ortho P배지인 경우는 明배양과는 달리 Acid Soluble Poly가 全體의 半이 넘는다.

이것은 먼저 언급한 바와 같이 Kulaev(1974)와는 아주 다른 결과이고, Ortho P로부터 Poly P가 合成되는 것은 明暗의 差異에 따라 아주 달라진다는 것을 나타내는 것이다.

Poly P배지의 경우도 Acid Soluble Poly P가 絶對적으로 많고 상대적으로 Salt, Hot Acid Soluble Poly P가 아주 적은것이 특징이다.

全體적으로 볼 때 배지에 포함된 인산의 種類에 따른 差異는 收率面에서 明培養의 경우 Ortho P배지보다 Pyro P배지가 많고 暗培養의 경우 그 反對이며 Total Poly P量은 明暗培養에서 共히 Pyro P배지에서 많다. 이것으로 미루어 Pyrophosphate는 Poly P合成에 어느정도 直接 관련되어 있음을 示唆하는 것으로 생각된다.

특히 *R. rubrum* 세포는 暗培養에서 Pyro P도 상당량 合成하는 것으로 생각된다.

### 摘 要

1. 光合成細菌 *R. rubrum*을 Ortho P, Pyro P가 各各 包含된 培地로 明·暗狀態로 培養하여 收率, pH變化, Polyphosphate含量등을 조사하였다.
2. pH는 Ortho P배지보다 Pyro P배지에서 더 높았다.
3. 收率は 明培養때는 Ortho P배지에서가 낮고 暗培養인때는 反對였다.
4. Poly P함량은 明·暗區別 없이 Pyro P배지에서 월등히 높았다.
5. 暗배양의 경우 Ortho P배지에서 배양할 때 상당량의 Pyro P가 生合成되는 것으로 보인다.
6. Pyro P는 어떤 經路이건 직접 long chain Poly P合成에 관여되는 것으로 보인다.

## 引用文獻

- Baker, A. C., and Schmidt, R. R., 1964. Further Studies on the intracellular distribution of phosphorus during synchronous growth of *Chlorella pyrenoidosa*. *Biochim. Biophys. Acta*, **82**; 336.
- Baltscheffsky, M., 1967. Inorganic pyrophosphate as an energy donor in photosynthetic and respiratory electron transport phosphorylation systems. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, **28**; 270~276.
- Baltscheffsky, M., 1967. Inorganic pyrophosphate and ATP as Energy Donors in Chromatophores from *Rhodospirillum rubrum*. *Nature*, **216**; 241~243.
- Bose, S. K., Howard Gest., and John G. Ormerod., 1962. Light-activated Hydrogenase Activity in a photosynthetic Bacterium; A permeability phenomenon. *J. Biol. Chem*, **236**.(3). PC13.
- Carr, N. G., and Sandhy, G. R., 1966. Endogenous metabolism of polyphosphates in two photosynthetic microorganisms. *Biochem. J*, **99**; 297~309.
- Chen, P. S. Jr., T. Y. Toribara., and Huber Warner., 1956. Microdetermination of phosphorus. *Analytical chemistry*, **28**(11); 1756~1758.
- Cohen-Bazire, Germaine., W. R. Sistrom., and R. Y. Stanier., 1957. Kinetic Studies of Pigment Synthesis by Non-sulfur Purple Bacteria. *J. Cellular. Comp. Physiol*, **49**; 25~68.
- Cole, J. A., and Hughes, D. E., 1965. The metabolism of polyphosphates in *chlorobium thiosulfatophilum*. *J. Gen. Microbiol*, **38**; 65~72.
- Deierkauf, F. A., and Booi, H. L., 1968. Changes in the phosphatide pattern of yeast cells in relation to active carbohydrate transport. *Biochim. Biophys. Acta*, **150**; 214.
- Drews, G., 1962. The cytochemistry of polyphosphates. *Colloq. Int. C. N. R. S.*, (Paris), **106**; 533~539.
- Ebel, J. P., Colas, J., and Muller. S., 1958. Recherches cytochimiques sur les polyphosphates inorganiques contenus dans les organismes vivants. II. Mise au point de methodes de detection cytochimiques specifiques des polyphosphates. *Exp. Cell. Res.*, **15**; 28.
- Ehrenberg, M., 1961. Der phosphorstoffwechsel von *Saccharomyces cerevisiae* in Abhangigkeit von intra-und extracellulärer phosphatkonzentration. *Arch. Mikrobiol*, **40**; 126.
- Friedberg, I., and Gad Avigad., 1968. Structures containing Polyphosphate in *Micrococcus lysodeikticus*. *J. Bacteriol*, **96**(2); 544~553.
- Gabel, N. W., 1971. Excitability, polyphosphates and precellular organization, in *Molecular Evolution*, vol. 1. Chemical Evolution and the Origin of Life, Eds. Buret, R., and Ponnampuruma, C., North-Holland, Amsterdam, P 369.
- Gabel, N. W., and Thomas, V., 1971. Evidence for the occurrence and distribution of inorganic polyphosphates in vertebrate tissues. *J. Neurochem*, **18**; 1229.
- Guillory, R. J., R. R. Fisher, 1972. Studies on the light-dependent synthesis of Inorganic Pyrophosphate by *Rhodospirillum rubrum* chromatophores. *Biochem. J*, **129**; 471~481.
- Harold, F. M., 1962. Depletion and replenishment of the inorganic polyphosphate pool in *Neurospora crassa*. *J. Bacteriol*, **83**; 1047.
- \_\_\_\_\_, 1963. Accumulation of Inorganic Polyphosphate in *Aerobacter aerogenes*. I, Relationship to growth and nucleic acid synthesis. *J. Bacteriol*, **86**; 216~221.
- Harold, F. M., 1966. Inorganic Polyphosphates in Biology: Structure, Metabolism, and function. *Bacteriological Reviews*, **30**(4); 772~794.
- \_\_\_\_\_, and Harold, R. L., 1965. Degradation



- of inorganic polyphosphates in mutants of *Aerobacter aerogenes*. J. Bacteriol, **89** ; 1262.
- Harold, R. L., and Harold, F. M., 1963. Mutants of *Aerobacter aerogenes* blocked in the accumulation of inorganic polyphosphate. J. Gen. Microbiol, **31** ; 241.
- Harold, F. M., and Sylvan, S., 1963. Accumulation of inorganic polyphosphate in *Aerobacter aerogenes*. II. Environmental control and the role of sulphur compounds. J. Bacteriol, **86** ; 222.
- Heller, J., Karpiak, S., and Zubikowa, J., 1950. Inorganic pyrophosphate in insect tissue. Nature, **166** ; 187.
- Hermann, E. C., and Schmidt, R. R., 1965. Synthesis of phosphorus-containing macromolecules during synchronous growth of *Chlorella pyrenodosa*. Biochim. Biophys. Acta, **95** ; 63.
- Hoffman-Ostenhof, O., 1962. Some biological functions of the polyphosphates. Colloq. Int. C. N. R. S. **106** ; 640~650.
- Hughes, D. E., S. F. Conti., and R. C. Fuller., 1963. Inorganic Polyphosphate Metabolism in *Chlorobium thiosulfatophilum*. J. Bacteriol, **85** ; 577~584.
- Klemme, J. H., and H. Gest., 1971. Regulation of the Cytoplasmic Inorganic Pyrophosphatase of *Rhodospirillum rubrum*. Eur. J. Biochem, **22** ; 529~537.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, 1971. Regulatory properties of an inorganic pyrophosphatase from the photosynthetic bacterium *Rhodospirillum rubrum*. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. **68** ; 721.
- Kornberg, S. R., 1957. Adenosine triphosphate synthesis from polyphosphate by an enzyme from *Escherichia coli*. Biochim. Biophys. Acta, **26** ; 294~300.
- Kornberg, A., S. R., Kornberg and Ernest, S. Simms., 1956. Metaphosphate synthesis by an Enzyme from *Escherichia coli*. Biochemica et Biophysica. Acta, **20** ; 215~227.
- Kulaev, I. S., A. Shadi., and S. E. Mansurova., 1974. Polyphosphates of phototrophic Bacteria *Rhodospirillum rubrum* under Different Cultivation Conditions. Biokhimiya, **39**(3). 656~661. (English Translation).
- Langen, P., E. Liss und K. Lohmann., 1962. Art, Bildung und Umsatz Der Polyphosphate Der Hefe, in Acides Ribonucleiques et polyphosphates, Structure Synthese et Functions. Colloq. Int. C. N. R. S. Strasbourg, 1961. C. N. R. S. Paris, 1962. P. 603.
- Lee, Hyun Soon and Lee, Kyung Mi., 1982. Isolation and Identification of *Rhodospirillum rubrum* in Korea. J. of Sung Kyun Kwan Univ, **32** ; 57~69.
- Lee, J. S., and Lim, Y. B., 1982. Effects of heavy metals on contents of various phosphate compounds and organic compounds in chlorella cells. Kor. J. Microbiol, **20**(1). 27~40.
- Lee, Yung Nok., 1964. Studies on the phosphate metabolism in Chlorella, with special Reference to Polyphosphate. Kor. J. Microbiol, **2**(1). 1~11.
- \_\_\_\_\_, and Lee, J. S., 1969. Physiological Studies on cell division by the technique of Synchronous culture of chlorella (I). On the Changes in phosphorylation of the cells during the life cycle. Kor. J. Microbiol, **7**(1). 1~9.
- Liebermann, L., 1888. Über das Nuclein der Hefe und Kinetische Darstellung eines Nuclein's Eiweiss und Metaphosphorsäure. Ber. Deit. Chem. Ges., **21** ; 598. Recited from the Kulaev's monograph 'The Biochemistry of Inorganic Polyphosphate' (1979, John Wiley & sons Ltd).
- Miyachi, Shigetoh., 1961. Inorganic Polyphosphate in Spinach leaves. J. Biochem, **50**(4). 367~370.
- \_\_\_\_\_, Ryuzi Kanai, S. Mihara, S. Aoki, 1964. Metabolic Roles of Inorganic Polyphosphates in chlorella cells. Biochim. et Biophys.

- Acta, **93**; 625~634.
- Mudd, S., A. Yoshida., and M. Koike., 1958. Polyphosphate as Accumulator of phosphorus and Energy. *J. Bacteriol*, **75**; 224~235.
- Nesmeyanova, M.A., Dmitriev, A.D., and Kulaev, I.S., 1974. The regulation of phosphorus metabolism and the level of polyphosphates in *Escherichia coli* K-12 by exogenous orthophosphate. *Mikrobiologiya*, **43**; 227~324. (English translation)
- Nishikawa, K., K. Hosoi., J. Suzuki., S. Yoshimura., and T. Horio., 1973. Formation and Decomposition of Pyro P related to Bacterial Photophosphorylation. *J. Biochem (TOKYO)*, **73**; 537~553.
- Pierpoint, W.S., 1957. Polyphosphates excreted by wax-moth larve (*Galleria mellonella* and *Achroea grisella* Fabr). *Biochem, J.*, **67**; 624.
- Rosenberg, H., 1966. The isolation and identification of "volutin" granules from *Tetrahymena*; *Exp, cell. Res.* **41**; 397.
- Shadi, A., S.E. Mansurova., V.D. Tsydendambaer., and I.S. Kulaev., 1976. Biosynthesis of Polyphosphates in Chromatophores of *Rhodospirillum rubrum*. *Mikrobiologiya*, **45**(2). 333~336. (English translation)
- Shiokawa, K., and Yamana, Y., 1965. Demonstration of Polyphosphate and *Rana japonica* embryos. *Exp, cell Res*, **38**; 180.
- Smillie, R.M., and Krotkov, G., 1960. Phosphorus-containing compounds in *Euglena gracilis* grown under different conditions. *Arch. Biochem. Biophys*, **89**; 83.
- Smith, I.W., Wilkinson, J.F., and Duguid, J.P., 1954. Volutin production in *Aerobacter aerogenes* due to nutrient imbalance. *J. Bacteriol*, **68**; 450~463.
- Uffen, R.L., and R.S. Wolfe., 1970. Anaerobic Growth of Purple Nonsulfur Bacteria under Dark Conditions. *J. of Bacteriology*, **104**(1). 462~472.
- Wilkinson, J.F., and J.P. Duguid., 1960. Culture Conditions and Bacterial Cytology. IV. Volutin granule. *Int. Rev. Cytology*, **9**; 16~25.