

Cycloheximide와 Chloramphenicol이 老化中인 보리幼葉 葉綠體의 電子傳達 活性에 미치는 影響

高 碩 贊

Effects of Cycloheximide and Chloramphenicol on the Chloroplast Electron Transport Activity during Senescence of Barley Leaves

Koh, Suck-chan

Summary

Barley leaves were excised from eight-day-old seedlings grown in the light and then incubated with water, cycloheximide and chloramphenicol in the dark.

Cycloheximide and chloramphenicol did not prominently prevent the loss of chlorophyll and soluble protein, and cycloheximide—not chloramphenicol—inhibited the senescent decline in the electron transport activity.

These results suggest that cycloheximide inhibits the synthesis of new proteolytic proteins and chloramphenicol have little effect on the proteolytic system.

序 論

잎의 노화에 대하여는 엽록소 함량과 단백질 분해 등과 관련지어 많은 연구가 진행되고 있으며 (Thimann, 1978; Yu and Kao, 1981), 이는 분해 과정으로서 cycloheximide, actinomycin D, chloramphenicol 등을 처리함으로써 지연시킬 수

있다고 생각되고 있다(Back and Richmond, 1971). 그러나 cycloheximide가 잎의 노화를 지연 시킨다는 주장과 오히려 촉진시킨다는 주장이 있어(Martin and Thimann, 1972; Takegami, 1975), 이를 규명하려는 노력이 진행중이다(Pjon, 1984). 또한 thylakoid내의 광화학 반응계는 photosystem I (PS I)과 photosystem II(PS II)로 나누어 지는데, triton X-100을 처리하여 분별 원심분리하여

理工大學 專任講師

조사한 결과 PSI는 8개의 주요 polypeptide를형성 하며 이 중에는 light-havesting chlorophyll a/b complex(LHCP I), P700 reaction center complex(P700 R.C.) 등이 있으며 PS II에는 10개의 주요 polypeptide 중에 light-havesting chlorophyll a/b complex(LHCP II), P680 reaction center complex(P680 R.C.), chlorophyll a antenna complex 등이 있는데(Lam and Malkin, 1984), 이들 엽록소-단백질 복합체에 의하여 전자전달과정 이 일어난다. 그리고 cycloheximide와 chloramphenicol에 의해 엽록소-단백질 복합체의 양적 변화를 조절할 수 있다는 연구 결과가 있다(Huh와 Koh, 1984).

따라서 본 실험에서는 보리 유업을 노화시켜 엽록소 및 단백질 함량 변화와 전자전달 활성 변화를 측정하여 cycloheximide와 chloramphenicol에 의한 보리유업의 노화 지연효과를 조사하고자 했다.

材料 및 方法

재료 : 농촌진흥청에서 분양받은 보리종자 (*Hordeum vulgare* L. cv Baecdong)를 750ft.c.의 광원하에서 vermiculite를 담은 용기에서 키웠으며, 배양액으로는 Hoagland액(×4)을 사용하였고, 25℃의 온도를 유지하였다. 노화과정을 조사하기 위하여는 8일간 키운 후, 유업을 채취하여 25℃ 암처에서 증류수에 띄운 것을 대조구로 하여 cycloheximide용액(10 μg/ml) 또는 chloramphenicol용액(100 μg/ml)에 띄운 것을 사용하였다.

엽록소 측정 :

Ogawa와 Shibata(1965)의 방법에 따라 666nm에서 흡광도를 측정한 후 엽록소 함량을 산출하였다.

수용성 단백질 정량 :

수용성 단백질 정량은 Lowry 등(1951)의 방법을 따랐으며, bovine serum albumin을 표준시료로 하였다.

엽록체의 분리 및 전자전달 활성측정 :

엽록체 분리와 전자전달 활성은 Lee 등(1983)의

방법에 따랐으며 Binder와 Bachofen(1979)의 방법으로 산출하였다.

結果 및 考察

유업에서의 엽록소 함량변화 :

유업의 채취시기를 결정하기 위하여 엽록소a,b 함량을 측정된 결과, 엽록소 a는 5일 이후 급속히 증가하여 8일 이후 보리유업 생체량 1g당 2,000 μg정도의 높은 함량을 보이며, 엽록소 b도 비슷한 경향이나 엽록소 a의 30% 정도의 함량을 나타내고 있어(Fig.1), 노화과정을 조사하기 위하여 8일째에 유업을 채취하였다.

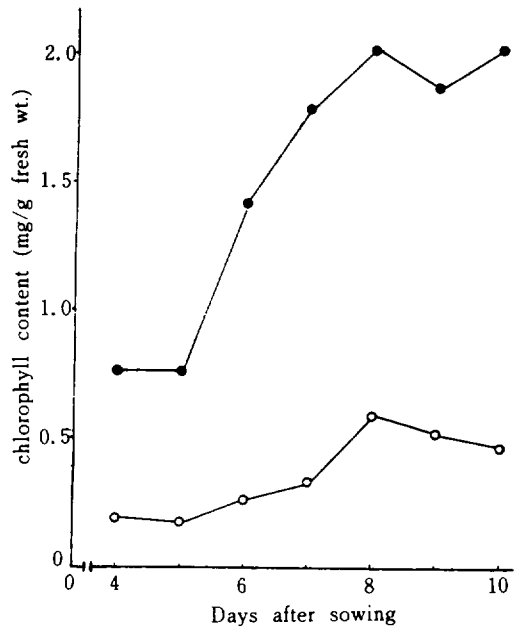


Fig. 1. The contents of chlorophyll a (●) and chlorophyll b (○) in the barley leaves during germination in the light.

노화과정에서 엽록소와 수용성 단백질 함량변화 :

8일동안 광하에서 자란 유묘에서 유업을 채취, 노화시켜 엽록소와 수용성 단백질 함량을 측정하였다(Fig.2). 엽록소 b는 cycloheximide와 chlor-

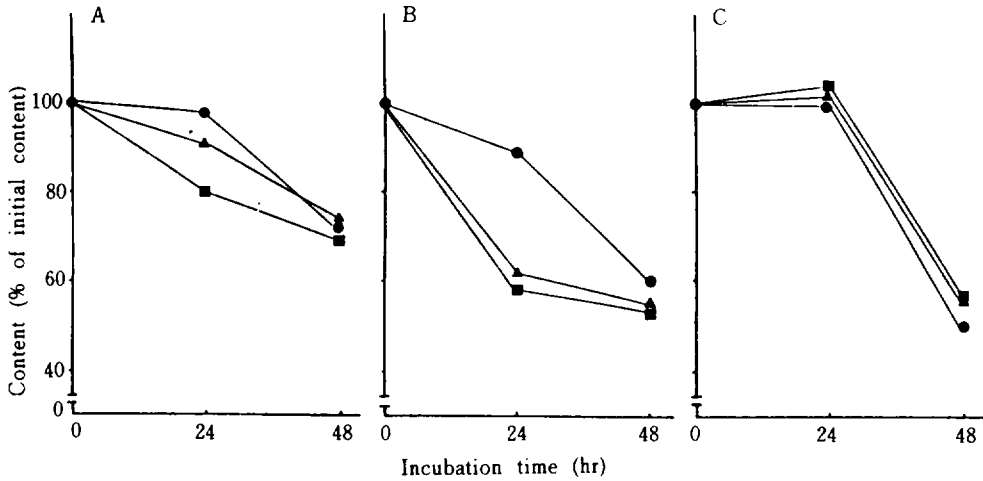


Fig. 2. Effects of cycloheximide and chloramphenicol on the loss of chlorophyll a (A), chlorophyll b (B) and soluble protein (C) in the barley leaves. Eight-day-old barley leaves were excised and then incubated in the dark in the absence (●) and in the presence of cycloheximide (▲) and chloramphenicol (■). Each value was expressed as percent of initial content.

amphenicol을 처리한 결과 24시간 후 40%나 감소하여 10%가 감소한 대조구에 비하여 큰 차이를 나타냈으나, Fig.1에서 8일동안 자란 유묘의 유엽에서 엽록소 b함량이 낮아서 전체 엽록소 함량에 있어서는 큰 변화라고 볼 수 없으며, 엽록소 a와 수용성 단백질은 처리간에 큰 차이가 없었다. 이와 같은 결과는 cycloheximide가 귀리나 옥수수 잎의 노화과정중 엽록소 감소나 단백질 분해를 크게 지연시킨다는 주장(Martin and Thimann, 1972; Pjon, 1984)이나 담배잎에서 엽록소 함량이나 단백질 함량을 감소시켜 노화를 촉진시킨다는 주장(Takegami, 1975)과도 달리, 보리유엽에서는 cycloheximide나 chloramphenicol이 노화시에 전체 엽록소량과 수용성 단백질 총량의 함량변화에는 영향을 주지 못하는 것으로 보인다.

노화과정에서 전자전달 활성 측정 :

유엽의 엽록체에서 전자전달 활성을 측정할 결과, PS I + II와 PS II는 노화에 따라 전자전달 활성이 크게 감소하여 3일 후 40%나 감소하였으나 PS I은 10% 정도의 감소에 지나지 않았으며 (Fig. 3), 노화중 PS II나 PS I + II에 비하여 PS

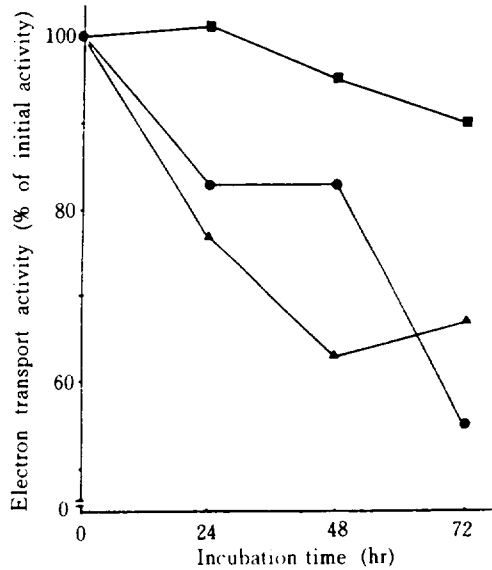


Fig. 3. Electron transport activity of barley leaves during senescence. Chloroplasts were isolated from detached barley leaves incubated with water in the dark. ■, PS I; ▲, PS II; ●, PS I + II. Each value was expressed as percent of initial electron transport activity.

I이 오랫동안 안정한 상태를 유지한다는 사실을 알 수 있었다. 또한 노화과정에서 전자전달을 cycloheximide와 chloramphenicol을 처리하여 비교한 결과 24시간 후의 대조구에 비하여 cycloheximide 처리구는 PS I, PS II, PS I + II에서 모두 30% 이상 높은 활성을 나타냈으며, chloramphenicol은 PS I + II에서만 조금 높은 활성을 보인 반면 PS I과 PS II에서는 대조구에 비하여 거의 차이가 없었다(Table.1). 이는 thylakoid를 이루는 단백질의 감소와 같은 속도로 PS I과 PS II의 전자전달 활성이 감소한다는 보고가 있으며(Thomas, 1977) 잘라낸 보리잎에서 RuBP-Case와 같은 단백질의 감소에 있어서 chloramphenicol은 거의 효과가 없으나 cycloheximide은 억제한다는 사실이 밝혀진 사실로 보아(Huffaker and Miller, 1978), cycloheximide에 의한 세포질 내에서의 새로운 단백질 합성의 억제가 전자 전달과 관계가 있는 단백질의 분해를 지연시킴으로서 전자전달 활성이 대조구에 비하여 높은 것으로 보이며, chloramphenicol에 의한 효과가 낮은 것으로 보아 엽록체 내에서의 단백질 합성과는 관계가 없음을 알 수 있다. 또한 PS I인 경우 Fig.3에서 24시간 후 전자전달 활성이 10% 정도 감소한데 반하여 Table 1에서 cycloheximide 처리시 30% 이상의 높은 활성증가는 cycloheximide에 의한 단백질 합성 억제효과라고만은 볼 수 없는 것으로 좀더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 보인다.

摘 要

빛을 조사하여 키운 유묘에서 8일째 유묘를 채

Table 1. Effects of cycloheximide and chloramphenicol on the senescent decline of electron transport activity

Treatments	Electron transport activity(%)		
	PS I	PS II	PS I + II
Water	100	100	100
Cycloheximide 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	134	130	138
Chloramphenicol 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	103	105	119

Chloroplasts were isolated from detached barley leaves incubated for 24 hrs in the dark with water, cycloheximide and chloramphenicol. Each value was expressed as percent of electron transport activity in the leaves incubated with water.

취, 노화시켜 엽록소와 수용성 단백질 함량변화 그리고 전자전달 활성을 측정하였다. Cycloheximide와 chloramphenicol을 처리함으로써 전체 엽록소량과 수용성 단백질 총량에는 크게 영향을 주지 못하였으나, 전자전달 활성에는 cycloheximide에 의해 PS I, PS II, 그리고 PS I + II에서 모두 30% 이상 활성증가 보였으며 chloramphenicol의 효과는 없었다. 따라서 보리유묘의 노화과정에서 cycloheximide에 의한 세포질내에서의 단백질 합성 억제가 전자전달과 밀접한 단백질의 분해에 영향을 주는 것으로 보인다.

參 考 文 獻

Back, A. and A. E. Richmond, 1971. Interrelations between gibberellic acid, cytokinins and abscisic acid in retarding leaf senescence. *Physiol. Plant.* 24 : 76-79.

Binder, A. and R. Bachofen, 1979. Oxygen evolution and uptake as a measure of the light-induced electron transport in spinach chloroplasts. In *Membrane biochemistry—A*

- Laboratory manual on transport and bioenergetics, Carafiori, E. and G. Semenza (eds.), Springer-verlag, Berlin, Heidelberg, New York. pp.144-153.
- Huffaker, R. C. and B. L. Miller, 1978. Reutilization of ribulose bisphosphate carboxylase, In Photosynthetic carbon assimilation, Siegelman, H. W. and E. Hind (eds.), Plenum Press, New York. pp.307-324.
- Huh, I. O. and S. C. Koh, 1984. Effects of cycloheximide and chloramphenicol on the contents of chlorophyll and CP-complexes in the greening barley leaves. *Cheju National University Journal* 19 : 143-147.
- Lam, E. and R. Malkin, 1984. Studies of the reconstitution of chloroplast electron transfer process, In Current topics in plant biochemistry and physiology Vol. 3, Randall, D. D., D. G. Blevins, R. L. Larson and B. J. Rapp (eds.), Univ. of Missouri, Columbia. pp.33-43.
- Lee, C. B., Y. N. Hong, Y. D. Cho, S. H. Lee and Y. M. Kwon, 1983. Development of electron transport and photophosphorylation in greening barley seedlings. *Korean Biochem. J.* 16(1) : 61-71.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. I. Farr and R. J. Randal, 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265-275.
- Martin, C. and K. V. Thimann, 1972. The role of protein synthesis in the senescence of levels 1—The formation of protease. *Plant Physiol.* 49 : 64-71.
- Ogawa, T. and K. Shivata, 1965. A sensitive method for determining chlorophyll b in plant extracts. *Photochem. photobiol.* 4 : 193-200.
- Pjon, Che-jun, 1984. Effects of cycloheximide and light on leaf senescence in maize and hydrangea. *Plant & Cell Physiol.* 22(5) : 847-854.
- Takegami, T., 1975. A study on senescence in tobacco leaf disks I—Inhibition by benzylaminopurine of decrease in protein level. *Plant & Cell Physiol.* 16 : 407-416.
- Thimann, K. V., 1978. Senescence, In Controlling factors in plant development, Bot. Mag. Tokyo, Special Issue Vol. I. pp.19-43.
- Thomas, H. 1977. Ultrastructure, polypeptide composition and photochemical activity of chloroplasts during foliar senescence of a non-yellowing genotype of *Festuca pratensis* Huds. *Planta* 137 : 53-60.
- Yu, S. M. and C. H. Kao, 1981. Retardation of leaf senescence by inhibition of RNA and protein synthesis. *Physiol. Plant.* 52 : 207-210.